

Die genetische Differenzierung des Prostatakarzinoms mittels CGH zur Prognosebewertung.

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades

doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät der
Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Eveline Hauschild

geboren am 20.07.1977 in Jena

Gutachter:

- 1.
- 2.
- 3.

Tag der öffentlichen Verteidigung:

I Inhaltsverzeichnis

I	Inhaltsverzeichnis	
II	Abkürzungsverzeichnis	
III	Abbildungsverzeichnis	
IV	Tabellenverzeichnis	

1.	Zusammenfassung	10
2.	Einleitung	12
2.1.	Epidemiologie und Ätiologie des Prostatakarzinoms	13
2.2.	Pathologie des Prostatakarzinoms	16
2.2.1.	Gradingssysteme des Prostatakarzinoms	18
2.2.1.1.	Gleason-Grading	18
2.2.1.2.	WHO-Grading	20
2.2.1.3.	Grading nach dem pathologisch-urologischen Arbeitskreis „Prostatakarzinom“ von Helpap	21
2.2.3.	TNM-Klassifikation des Prostatakarzinoms	22
2.3.	Klinische Problematik des Prostatakarzinoms	24
2.3.1.	Screening Tests	24
2.3.2.	Prostata-spezifisches Antigen (PSA)	25
2.3.3.	Diagnostik des Prostatakarzinoms	27
2.3.4.	Therapie des Prostatakarzinoms	28
2.4.	Molekularbiologische Aspekte des Prostatakarzinoms	29
2.4.1.	Genetik des Prostatakarzinoms	29
2.4.1.1.	Sporadisches Prostatakarzinom	30
2.4.1.2.	Hereditäres Prostatakarzinom	32
2.5.	CGH	33
2.6.	Zielstellung der Arbeit	35
3.	Material und Methode	37
3.1.	Patientengut	37
3.2.	Gewebematerial und DNA-Isolation	38
3.3.	DOP-PCR	40

3.4.	Markierung der DNA	42
3.5.	Hybridisierung	44
3.6.	Detektion	45
3.7.	Auswertung	46
4.	Ergebnisse	50
4.1.	Histologie und klinischer Verlauf	50
4.2.	Häufigkeit spezifischer genetischer Veränderungen des Prostatakarzinoms	53
4.2.1.	Radikale Prostatektomie-Gruppe	53
4.2.2.	Gruppe der Patienten mit Hormontherapie	53
4.2.3.	Vergleich der beiden Gruppen	54
4.3.	Beziehung der genetischen Veränderungen zur T-Kategorie und zum Grading	55
4.4.	Zusammenhang zwischen genetischen Veränderungen und PSA-Wert	59
4.5.	Häufigkeit spezieller Veränderungen bei Progress	61
4.6.	Häufigkeit spezieller Veränderungen in unterschiedlichen Arealen innerhalb eines Tumors	65
4.7.	Verhältnisse im Bezug auf Verlust und Zugewinne	66
5.	Diskussion	68
5.1.	Beurteilung des ausgewählten Patientengutes	68
5.2.	Definition spezieller genetischer Muster des Prostatakarzinoms	69
5.2.1.	Rolle des Zugewinns auf Chromosom 8q	70
5.2.2.	Rolle des Verlustes auf Chromosom 8p	72
5.2.3.	Rolle der kombinierten Veränderung der Chromosomen 8q und 8p	74
5.3.	Spezielle genetische Veränderungen unter Berücksichtigung der T-Kategorie und des Gratings	75
5.4.	Beziehung spezieller genetischer Veränderungen zum PSA-Wert	77
5.5.	Zusammenhang zwischen speziellen genetischen Veränderungen und Progress	79

5.6.	Häufigkeit spezieller genetischer Veränderungen in verschiedenen Tumorarealen eines Tumors	82
5.7.	Diskussion der Relation Verlust zu Zugewinn	84
6.	Schlussfolgerung	86
V	Literaturverzeichnis	88
VI	Anhang	101
	Lebenslauf	
	Erklärung	
	Danksagung	

II **Abkürzungsverzeichnis**

AAH	Adenomatöse atypische Hyperplasie
Abb.	Abbildung
BPH	Benigne Prostatahyperplasie
CCD	Charged coupled devices
CGH	Comparative genomic Hybridization
CT	Computertomografie
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DAPI	4,6-Diamidino-2-phenyl-indol
DGU	Deutsche Gesellschaft für Urologie
DIG-dUTP	Digoxigenin 2'-Deoxyuridine 5'-Triphosphate
DNTP	Deoxynucleotide Triphosphate
DOP	Degenerate Oligonucleotid-Primed
DRU	Digitale-rektale Untersuchung
et al.	et alii
FISH	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung
FITC	Fluoresceinisothiocyanat
HE	Hämatoxylin-Eosin
H ₂ O	Wasser
HPC	Hereditäres Prostatakarzinom
ISUP	International Society of Urological Pathology
ISIS	in situ imaging systems
LK-MTS	Lymphknotenmetastasen
LOH	Loss of Heterozygosity
LH-RH	Luteinisierendes Releasing Hormon
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
MRT	Magnetresonanztomografie
PCR	Polymerasekettenreaktion
PIN	Prostatische intraepitheliale Neoplasie
PSA	Prostata-spezifisches Antigen
PSAD	Prostata-spezifisches Antigen-Density (Dichte)
PSAV	Prostata-spezifisches Antigen- Velocity (Anstiegsgeschwindigkeit)
RB	Retinoblastom

RPX	Radikale Prostatovesikulektomie
RKI	Robert-Koch-Institut
Tab.	Tabelle
TNM	Tumor Nodus Metastasis
TRUS	Transrektaler Ultraschall
TRUZ	Transrektale ultraschallgestützte Stanzbiopsie
TURP	Transurethrale Resektion der Prostata
UICC	Union International Contre le Cancer
UV	Ultraviolett
WHO	World Health Organization

III **Abbildungsverzeichnis**

Abb. 1	Altersspezifische Inzidenz in Deutschland 2004 (nach RKI)	13
Abb. 2	Altersstandardisierte Neuerkrankungen pro 100.000 (Weltstandard)	15
Abb. 3	Wachstumsmuster des Prostatakarzinoms nach Gleason	20
Abb. 4	Wachstumsstadien des Prostatakarzinoms (nach UICC)	23
Abb. 5	Fluoreszenzbild einer Metaphase des Prostatakarzinoms aus der prostatektomierten Gruppe Nummer 14	47
Abb. 6	Karyogramm einer Metaphase des Prostatakarzinoms der RPX-Gruppe Nummer 14	48
Abb. 7	Darstellung des mittleren Fluoreszenzprofils	49
Abb. 8	Vergleich der prozentualen Häufigkeiten der genetischen Veränderungen spezieller Chromosomen der RPX-Gruppe und der TRUZ-Gruppe	55
Abb. 9	Prozentuale Häufigkeiten der Fälle mit Aberrationen insgesamt, Zugewinne auf Chromosom 8q und Verluste auf 8p in Abhängigkeit der G-Kategorie der TRUZ-Gruppe	57
Abb. 10	Prozentuale Häufigkeiten der Fälle mit Aberrationen insgesamt, Zugewinne auf Chromosom 8q und Verluste auf Chromosom 8p in Abhängigkeit vom Gleason-Grad der RPX-Gruppe	58
Abb. 11	Prozentuale Häufigkeiten der Fälle mit Aberrationen insgesamt, Zugewinne auf Chromosom 8q und Verluste auf Chromosom 8p in Abhängigkeit zur T-Kategorie der RPX-Gruppe	59
Abb. 12	Prozentuale Häufigkeiten der Fälle mit Aberrationen insgesamt, Zugewinne auf Chromosom 8q und Verluste auf Chromosom 8p in Abhängigkeit der gewählten PSA-Bereiche	61
Abb. 13	Vergleich der prozentualen Häufigkeiten spezieller genetischer Veränderungen der RPX- und TRUZ-Gruppe unter Progress	65

IV Tabellenverzeichnis

Tab. 1	Histologische Klassifikation des Prostatakarzinoms nach Dhom	17
Tab. 2	Histologische Einteilungskriterien nach dem Gleason-Grading	19
Tab. 3	Einteilungskriterien des Prostatakarzinoms nach dem WHO-Grading	21
Tab. 4	Gegenüberstellung der 3 Gradingssysteme zur Malignitätseinteilung	22
Tab. 5	Vergleich von Screeningmethoden in größeren Serien	25
Tab. 6	Entdeckungsrate organbegrenzter bzw. organüberschreitender Prostatakarzinome durch DRU und PSA	26
Tab. 7	Häufigkeitsverteilung von Prostatakarzinomen in verschiedenen PSA-Bereichen	27
Tab. 8	Präoperativer PSA, TNM-Klassifikation, Gleasoneinteilung, Progress im Verlauf, Auftreten von Metastasen p.o., adjuvante Therapie und Überleben der RPX-Patienten	51
Tab. 9	Alter bei Diagnosestellung, prätherapeutischer PSA, prätherapeutische Metastasen, G-Kategorie, Progress im Verlauf und Überleben der TRUZ-Patienten	52
Tab. 10	Anzahl genetischer Veränderungen spezieller Chromosomen der RPX-Gruppe	53
Tab. 11	Anzahl genetischer Veränderungen spezieller Chromosomen der TRUZ-Gruppe	54
Tab. 12	Anzahl der Aberrationen pro Tumor in Abhängigkeit zum Grading der TRUZ-Gruppe	56
Tab. 13	Anzahl der Aberrationen pro Tumor in Abhängigkeit zum Grading der RPX-Gruppe	56
Tab. 14	Zusammenhang der durchschnittlichen Anzahl der Aberrationen pro Tumor zum PSA-Wert der RPX-Gruppe	60
Tab. 15	Zusammenhang der durchschnittlichen Anzahl der Aberrationen pro Tumor zum PSA-Wert der TRUZ-Gruppe	60
Tab. 16	Chromosomale Veränderungen, Metastasen postoperativ, Rezidive, präoperativer PSA-Wert und Alter der RPX-Gruppe	62
Tab. 17	Chromosomale Veränderungen, Metastasen prätherapeutisch, Rezidive, präoperativer PSA-Wert und Alter zum Diagnosezeitpunkt der der TRUZ-Gruppe	63

Tab. 18	Häufigkeit spezieller Veränderung verschiedener Areale in einem Tumor der RPX-Gruppe	66
Tab. 19	Beziehung des Verhältnisses Verlust/Zugewinn insgesamt und bei Patienten mit und ohne Progress der RPX-Gruppe	66
Tab. 20	Beziehung des Verhältnisses Verlust/Zugewinn insgesamt und bei Patienten mit und ohne Progress der TRUZ-Gruppe	67

1. Zusammenfassung

Das Prostatakarzinom ist aktuell der häufigste maligne Tumor des Mannes. Jährlich sterben 12.000 Männer in Deutschland an dieser Erkrankung. Damit ist das Prostatakarzinom die dritthäufigste Krebstodesursache (Statistisches Bundesamt, 2007). Das Prostatakarzinom ist ein Tumor des älteren Mannes mit einem mittleren Erkrankungsalter von über 70 Jahren. Symptomatisch wird ein Prostatakarzinom erst im fortgeschrittenen Stadium. Eine kurative Behandlung des Prostatakarzinoms ist jedoch nur bei organbegrenzten Tumoren möglich, die zu einem hohen Prozentsatz in Vorsorgeuntersuchungen durch einen erhöhten PSA-Wert auffallen und mittels Prostatastanzbiopsie diagnostiziert werden. Der am häufigsten verwendete Tumormarker ist derzeit das Prostata-spezifische Antigen (PSA), welcher jedoch nur bedingt Auskunft über den zu erwartenden Verlauf der Erkrankung geben kann. Problematisch ist nicht die Diagnostik des Prostatakarzinoms, sondern die Abschätzung des malignen Potentials und der Aggressivität des Tumors. Aktuell basiert die Einschätzung des malignen Potentials auf der Stadieneinteilung, dem Grading und dem Verlauf des PSA-Wertes. Trotzdem ist die Vorhersage des Verlaufs für den individuellen Patienten begrenzt. Ziel muss es sein, weitere Marker zu finden, die zur Aufklärung der Entwicklung und Progression des Prostatakarzinoms beitragen. Ziel dieser Arbeit war es daher, spezifische genetische Veränderungen des Prostatakarzinoms zu definieren, die mit dem klinischen Verlauf korrelieren. Eine Bewertung des Progressionsrisikos anhand genetischer Muster würde den Einsatz genetischer Tests in der Standarddiagnostik des Prostatakarzinoms rechtfertigen und eine neue Möglichkeit bieten, Risikopatienten zu identifizieren.

Es wurden insgesamt 53 Adenokarzinome der Prostata mit Hilfe der Vergleichenden Genomischen Hybridisierung (Comparative Genomic Hybridization, CGH) analysiert. Das Patientengut teilte sich in zwei Gruppen auf. Die eine Patientengruppe mit 28 Fällen wurde primär mit einer Hormontherapie (TRUZ-Gruppe) behandelt. Das Tumorgewebe in dieser Gruppe wurde aus Stanzbiopsiezylindern gewonnen. Die andere Gruppe mit 25 Fällen unterzog sich primär einer radikalen Prostatovesikulektomie (RPX-Gruppe). Das Tumorgewebe wurde aus den Operationspräparaten gewonnen. Chromosomale Veränderungen fanden sich in der RPX-Gruppe in 17 von 25 Fällen und in der TRUZ-Gruppe in 25 von 28 Fällen. Eine Vielzahl chromosomaler Veränderungen konnte detektiert werden, 6 spezifische Veränderungen traten in unserer Untersuchung gehäuft auf. In der RPX-Gruppe und in der TRUZ-Gruppe fielen Verluste auf den Chromosomen 6q (35%; 40%), 8p (35%; 48%), 16q (29%; 24%), 18q (24%, 24%) und Zugewinne auf den Chromosomen 8q (71%;

36%) und 17 (6%; 44%) am häufigsten auf. Um spezifische genetische Veränderungen und Muster unter Berücksichtigung des klinischen Verlaufes beurteilen zu können, bedienten wir uns schon bekannter Prognoseparameter wie dem Grading, der T-Kategorie und dem prätherapeutischen PSA-Wert. In beiden Gruppen konnte mit steigendem Malignitätsgrad eine wachsende Anzahl der Aberrationen pro Tumor, ein stetiger Zugewinn auf Chromosom 8q und ein Verlust auf Chromosom 8p beobachtet werden. Die RPX-Gruppe beinhaltete 13, die TRUZ-Gruppe 11 progrediente Fälle. Als die häufigsten genetischen Veränderungen unter Progress kristallisierten sich Verluste auf 8p und Zugewinne auf Chromosom 8q heraus. In beiden Gruppen war ein Zugewinn auf 8q mit 80% in der RPX-Gruppe und mit 70% in der TRUZ-Gruppe die häufigste Veränderung.

Aus den Ergebnissen dieser Arbeit lässt sich schlussfolgern, dass die detektierten Aberrationen auf den Chromosomen 6q, 8p und 8q, 16q, 17 und 18q spezifische genetische Veränderungen des Prostatakarzinoms darstellen. Eine besondere Stellung nehmen Verluste auf 8p und Zugewinne auf 8q ein. Diese beiden spezifischen Veränderungen stehen in Beziehung mit dem klinischen Verlauf und der histopathologischen Klassifizierung. Unter Progression können vor allem Zugewinne auf 8q und Verluste auf 8p als spezifische Veränderungen definiert werden und es erhärtet sich der Verdacht, dass diese Aberrationen ein typisches genetisches Muster für ein erhöhtes Progressrisiko darstellen. Ein besonders rascher und aggressiver progredienter Verlauf zeigt sich bei Patienten mit einem Zugewinn auf Chromosom 8q oder einer Kombination aus Verlust auf Chromosom 8p und Zugewinn auf 8q. Daher sollten genetische Tests in der Routinediagnostik bei Risikopatienten wie z.B. Patienten mit einem Gleasonscore >6, PSA-Werten >20ng/ml und großem Tumolvolumen eingesetzt werden, da sie eine zusätzliche Entscheidungshilfe bei der Wahl der Therapiemöglichkeiten bieten.

2. Einleitung

Das Prostatakarzinom ist derzeit die häufigste Krebserkrankung beim Mann. Trotz verbesserter Diagnosemöglichkeiten und damit verbundener steigender Inzidenz des Prostatakarzinoms gelang es lange nicht, die Anzahl der Krebstodesfälle des Prostatakarzinoms zu senken. Dies ist sicherlich auch einer der Gründe, dass die PSA-Wertbestimmung bisher keine anerkannte Vorsorgeuntersuchung ist, obwohl der PSA-Wert im Blutserum der derzeitige einzige etablierte Tumormarker insbesondere für die Früherkennung des Prostatakarzinoms ist. Die hohe Inzidenz des Prostatakarzinoms ist das Hauptargument gegen entsprechende Screeningverfahren, da es schwierig ist, die klinisch nicht relevanten von den klinisch relevanten Tumoren zu unterscheiden. Die hauptsächliche Begründung in Deutschland für die Entscheidung gegen ein PSA-Screening ist eine drohende Überdiagnostik. Die aktuelle Schwierigkeit des Arztes besteht in der Beurteilung, ob das diagnostizierte Prostatakarzinom ein aggressives (sich schnell ausbreitendes) Tumorverhalten aufweist oder ein langsam wachsendes, über viele Jahre lokal begrenztes Prostatakarzinom ist. Davon abhängig würden sich völlig unterschiedliche Therapiewege ergeben. Prognosefaktoren, die eine Prädisposition und die Entwicklungstendenz eines Prostatakarzinoms vorhersagen könnten, wären wünschenswert. Zur Zeit basiert die Einschätzung des malignen Potentials eines Prostatakarzinoms hauptsächlich auf der Stadieneinteilung, dem Grading und dem Verlauf des PSA-Wertes. Obwohl für diese Faktoren signifikante Unterschiede im Tumorverhalten zwischen verschiedenen Patientengruppen gezeigt werden konnten, ist ihre Verlässlichkeit bei der Vorhersage des Verlaufs eines individuellen Tumors begrenzt.

Durch genetische Untersuchungen wie die Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) oder die CGH sowie in neuerer Zeit durch hoch auflösende Chiptechnologien wird in vielen Arbeitsgruppen versucht, tumorspezifische genetische Veränderungen zu finden, die mit der Tumorentstehung und -progression assoziiert sind. Aufgrund der ausgeprägten Heterogenität des Prostatakarzinoms sind die molekularen Mechanismen zur Entstehung und Progression des Tumors noch weitgehend ungeklärt. Vor dem Hintergrund, klinisch relevante Tumoren frühzeitig zu erkennen und zu behandeln und irrelevante Tumoren nicht unnötig einer radikalen Tumorthherapie zuzuführen, untersuchten wir die CGH als möglichen Prognoseparameter des Prostatakarzinoms. Ziel der Arbeit ist es, spezifische genetische Veränderungen des Prostatakarzinoms zu evaluieren, die mit dem klinischen Verlauf korrelieren.

2.1. Epidemiologie und Ätiologie des Prostatakarzinoms

Die Prostata ist mit 22,3% die häufigste Lokalisation maligner Tumoren des Mannes. Mit etwa 48.650 Neuerkrankungen pro Jahr in Deutschland hat das Prostatakarzinom 2006 den Lungenkrebs als häufigsten Tumor abgelöst. In Bezug auf die Krebstodesfälle steht das Prostatakarzinom mit ca. 12.000 pro Jahr (10,4%) im Gegensatz zum Lungenkrebs jedoch nur an dritter Stelle und liegt damit noch hinter dem Kolonkarzinom als zweithäufigstem Tumor des Mannes (Statistisches Bundesamt, 2007). Das mittlere Erkrankungsalter liegt, wie in Abbildung 1 dargestellt, bei etwas über 70 Jahren, etwa 2 Jahre höher als für maligne Erkrankungen insgesamt (Robert Koch Institut, 2007).

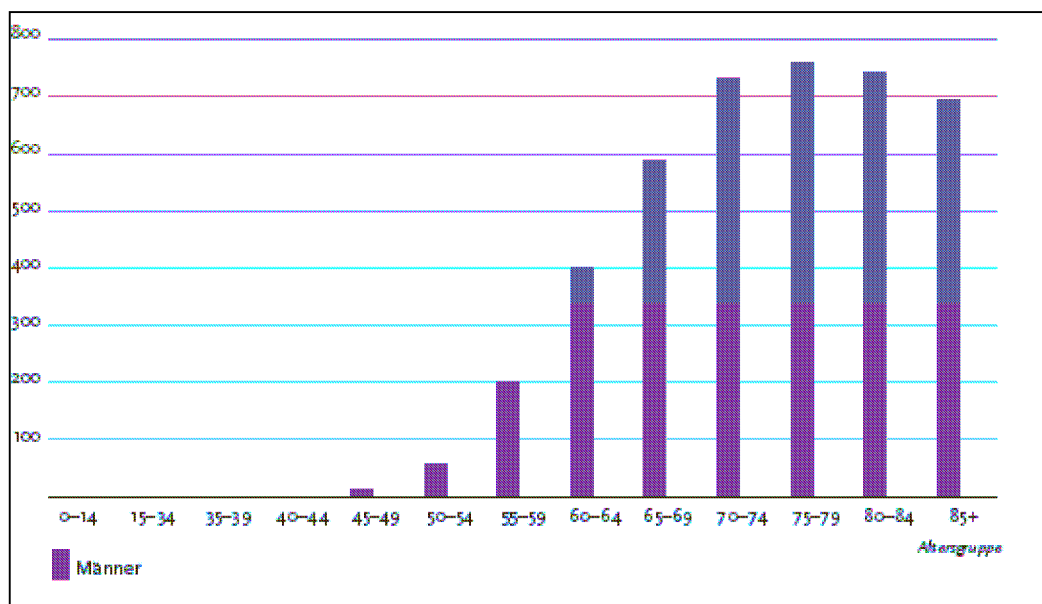


Abbildung 1: Altersspezifische Inzidenz in Deutschland 2004 (Neuerkrankungen pro 100.000 Männer in Altersgruppen; (Robert Koch Institut, 2007))

Seit 1990 ist die jährliche Inzidenz des Prostatakarzinoms steil angestiegen, was hauptsächlich auf eine Verbesserung der Diagnostik, insbesondere durch den PSA-Test, zurückzuführen ist. Die Mortalität in den USA fiel seit 1990 sogar durchschnittlich um 1% (Colli & Amling, 2008; Mettlin et al., 1998). In 12 von 24 untersuchten industrialisierten Ländern sanken die Mortalitätsraten, in Deutschland seit 1994 um 3,6% / Jahr (Baade et al., 2004).

Das Alter des Mannes ist einer der wichtigsten Risikofaktoren, denn mit dem Alter nimmt die Häufigkeit des Prostatakarzinoms stark zu. So traten 2004 Prostatakarzinome bei unter 60-

jährigen nur bei 90 von 100.000 Männern auf, während die Inzidenz bei Patienten zwischen 60 und 74 Jahren auf 570 je 100.000 Männer anstieg.

Autopsiestudien haben gezeigt, dass die Prävalenz viel höher liegt. Diese klinisch nicht auffälligen, bei der Autopsie zufällig entdeckten, gut differenzierten Prostatakarzinome sind sogenannte latente Prostatakarzinome. Im Mittel sind diese Tumoren kleiner als $0,5 \text{ cm}^3$ und entsprechen klinisch einem Tumorstadium T1a und T1b (Fowler, Jr. et al., 1997; Kibel & Humphrey, 2001; Thompson, 2001). Heute werden diese Tumoren, die mit einer Tumorverdopplungszeit von 2 bis 4 Jahren sehr langsam wachsen, als Frühformen des klinisch manifesten Prostatakarzinoms bewertet. Durch zunehmende PSA-Tests stieg in den letzten Jahren die Zahl der entdeckten Tumore kleiner $0,5 \text{ cm}^3$ an. Dabei zeigte sich bei 21% dieser Patienten trotz der geringen Tumorgöße bereits ein T3-Stadium (Hugosson et al., 2001). 9 von 10 latenten Prostatakarzinomen bleiben unentdeckt. Die Häufigkeit des latenten Prostatakarzinoms ist in fast allen ethnischen Gruppen gleich groß. Dies steht in Diskrepanz zu den unterschiedlichen Inzidenzzahlen des klinisch manifesten Prostatakarzinoms. Dafür gibt es unterschiedliche Erklärungsmodelle. Es wurden ein erhöhter Testosteronspiegel, eine Beeinflussung des Testosteronspiegels durch Diät, eine unterschiedliche Aktivität der 5- α -Reduktase, eine virale Genese durch die Exposition der Prostata Drüsen über die Urethra nach außen und damit verbunden mit viralen Entzündungen, diskutiert. Für alle diese Thesen liegen keine hinreichend sicheren Daten vor.

Weltweit ist die Häufigkeit des Prostatakarzinoms sehr unterschiedlich. Schwarze Amerikaner erkranken viermal und weiße Amerikaner doppelt so häufig wie deutsche Männer. Asiaten hingegen erkranken viel seltener, zeigen aber erhöhte Inzidenzzahlen nach der Einwanderung in Amerika, so dass Ernährungsgewohnheiten und Umweltfaktoren einen Einfluss nehmen zu scheinen. Eine Übersicht der Neuerkrankungsraten verschiedener Länder ist in Abbildung 2 dargestellt.

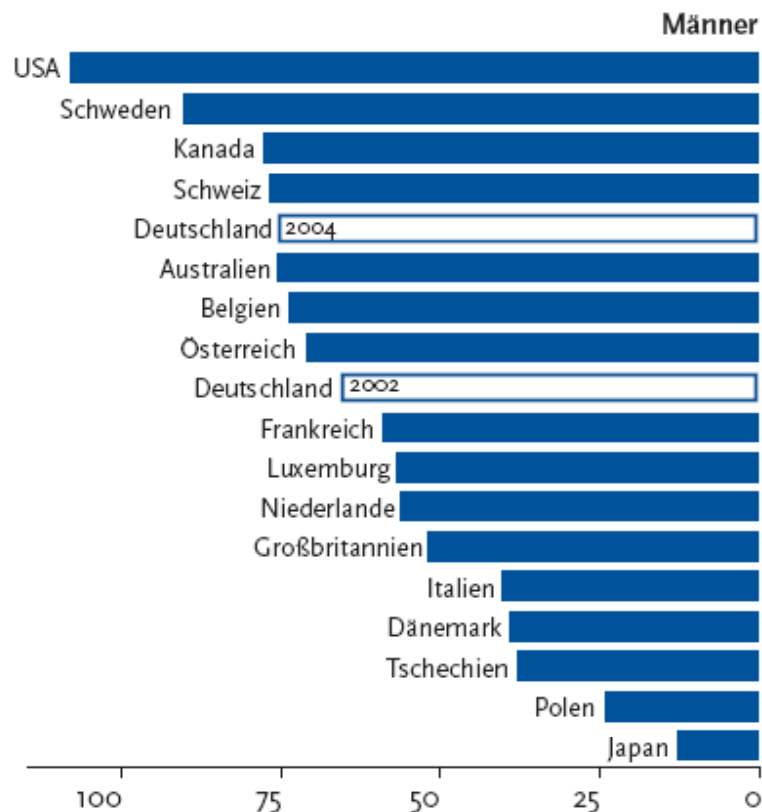


Abbildung 2: Altersstandardisierte Neuerkrankungen pro 100.000 (Weltstandard), Quelle: RKI 2007

Diphenolische Verbindungen, Isoflavonoide und pflanzliche Ligane, die z.B. in Gemüse und Soja vorkommen, werden von Darmbakterien zu schwach wirksamen Östrogenen verstoffwechselt und beugen auf hormonelle Wirkungsweise dem Prostatakarzinom vor. Hingegen korreliert ein hoher Konsum an tierischen Fetten und Adipositas laut epidemiologischen Studien mit der Häufigkeit eines Prostatakarzinoms. Eine hinreichende Klärung der Ursachen des Prostatakarzinoms gibt es bisher nicht. Ätiologisch bedeutsam scheint eine genetische Disposition zu sein. Hat ein Anverwandter ersten oder zweiten Grades ein klinisch manifestes Prostatakarzinom, so steigt das Risiko dieses Patienten auf das zwei- bis dreifache, 10 bis 20 Jahre früher ein Prostatakarzinom zu entwickeln im Vergleich zu einem familiär nicht belasteten Patienten. Gegenwärtig wird davon ausgegangen, dass etwa 10-15% der Prostatakarzinomfälle familiär auftreten.

Der größere Anteil der Prostatakarzinome ist nicht auf die Vererbung weniger Gene mit hoher Penetranz zurückzuführen, sondern wahrscheinlich auf eine multifaktorielle Vererbung mit Interaktion verschiedener Gene untereinander.

Die prostatiche intraepitheliale Neoplasie (PIN) gilt als Vorstufe und Risikofaktor des klinisch relevanten Prostatakarzinoms (Brawer, 2005).

Nicht ursächlich verantwortlich, aber den ätiologischen Betrachtungen unbedingt zugehörig, ist die hormonelle Situation des Patienten. Es ist schon seit längerem bekannt, dass vor der Pubertät kastrierte Männer nicht an einem Prostatakarzinom erkranken. Testosteron wird zwar nicht als präkanzerogen eingestuft, ist aber ein Wachstumsstimulator bei einem vorhandenen

Tumor der Prostata. Männer mit einer Testosteronkonzentration im oberen Normbereich haben ein zweifach erhöhtes Risiko an einem Prostatakarzinom zu erkranken (Shaneyfelt et al., 2000). Zu einem erhöhten Erkrankungsrisiko führen ebenfalls genetische Polymorphismen des Androgenrezeptors (Ross et al., 1998; Santos et al., 2003).

Tumorprotektive Effekte werden durch die Selensubstitution, Beta-Caroten Substitution, einer tomatenreichen Ernährung durch die enthaltenen Lycopene und durch Vitamin E – Substitution erreicht. Negative Effekte stellen kardiovaskuläre Risiken, Rauchen und fischfreie Kost dar (Hickey et al., 2001). Alkohol hat in einigen Studien keinen, in anderen Studien sogar einen positiven Einfluss ein Prostatakarzinom zu verhindern.

2.2. Pathologie des Prostatakarzinoms

Prostatische intraepitheliale Neoplasien (PIN) entstehen in der peripheren Zone der Prostata und sind bei intakter Basalmembran durch intraaziniäre Zellproliferationen und zytologische Atypien gekennzeichnet. Die Low-grade-PIN (PIN 1) weist bei intakter Basalzellschicht Zellveränderungen im Sinne eines hochdifferenzierten Karzinoms auf. Die Unterscheidung zwischen PIN 2 und 3 wurde in der Bezeichnung high grade PIN zusammengefasst und ist durch eine fragmentierte Basalzellschicht mit ausgeprägterem Atypiegrad der Epithelzellen gekennzeichnet. Patienten mit einem low-grade-PIN haben kein erhöhtes Risiko, in einer zweiten Prostatabiopsie ein Prostatakarzinom aufzuweisen (Brawer et al., 1991). Im Gegensatz dazu besteht beim high-grade-PIN mit 40-80% eine gehäufte Koinzidenz zum Prostatakarzinom und bei fehlenden Nachweis eines Prostatakarzinoms in der Primärbioptie sollte eine kurzfristige Rebiopsie erfolgen.

Ebenso werden die atypische adenomatöse Hyperplasie (AAH) und die atypische mikroazinäre Proliferation (ASAP) als potentielle präkanzeröse Epithelveränderungen des Prostatakarzinoms angesehen. Die atypische Hyperplasie geht von der Transitionalzone aus und wird als Vorstufe der Karzinome der Transitionalzone diskutiert. Eine erhöhte Koinzidenz zum Prostatakarzinom lässt sich derzeit nicht beweisen, so dass sich für die atypische Hyperplasie keine therapeutische Konsequenz ergibt. Die atypische mikroazinäre Proliferation gilt derzeit nicht als Krebsvorstufe, wird aber als verdächtiges Gewebe gewertet. Bei Nachweis einer ASAP (atypical small acinar proliferation) wird eine Rebiopsie nach 3 Monaten empfohlen Djavan 2001.

Das Prostatakarzinom wird international nach einer modifizierten WHO-Klassifikation in das häufige organotypische azinäre Adenokarzinom und andere seltene Karzinome eingeteilt. Dabei stellt das Adenokarzinom, welches vom Epithel der Azini und den terminalen Gängen ausgeht, mit 95% die häufigste Form dar. Seltener Formen sind das muzinöse Adenokarzinom, das kleinzellige Karzinom, das Basalzellkarzinom, undifferenzierte Karzinome und Karzinome, die von den Ausführungsgängen ausgehen, wie das duktales Adenokarzinom, das Übergangszellkarzinom, das neuroendokrin differenzierte Adenokarzinom, auch Karzinoid genannt, und das Plattenepithelkarzinom. Zu den ganz seltenen Formen zählt man die nichtepithelialen Prostata- und Samenblasentumoren wie Rhabdomyosarkome und Leiomyosarkome.

Die azinären Adenokarzinome weisen eine sehr differenzierte Struktur, Zytologie und dementsprechend eine große Variabilität in Bezug auf ihr biologisches Verhalten auf. Bei diesen großen Unterschieden wurden über 30 Gradingssysteme publiziert, die der Bestimmung des Malignitätsgrades zur weiteren Therapieplanung dienen sollen.

Eine häufig angewendete histologische Einteilung (Tabelle 1) ist die nach Dhom (Hohbach & Dhom, 1980).

Tabelle 1: Histologische Klassifikation des Prostatakarzinoms nach Dhom

Gewöhnliche Prostatakarzinome	
A: Uniformes Prostatakarzinom	B: Pluriformes Prostatakarzinom
1. hoch differenziertes Adeno-Ca	1. hoch/wenig differenziertes Adeno-Ca
2. wenig differenziertes Adeno-Ca	2. kribriiformes und solides Karzinom
3. kribriiformes Adeno-Ca	3. kribriiforme Anteile + andere Typen
4. undifferenziertes solides Karzinom	4. andere Kombinationen
Seltene / ungewöhnliche Prostatakarzinome	
1. muzinöses Adenokarzinom	4. Karzinoid
2. papillärduktales Karzinom	5. Transitionalzellkarzinom
3. adenoidzystisches Karzinom	6. Plattenepithelkarzinom

2.2.1. Gradingssysteme des Prostatakarzinoms

In Deutschland haben sich drei Systeme zur Malignitätseinteilung des Prostatakarzinoms etabliert. 1966 publizierte Gleason erstmalig eine histologische Einteilung des Prostatakarzinoms (Gleason, 1966). Das von Mostofi 1975 entwickelte WHO-System wurde 2002 weiterentwickelt. 1985 veröffentlichte der pathologisch-urologische Arbeitskreis „Prostatakarzinom“ ein Gradingssystem .

2.2.1.1. Grading nach Gleason

1966 entwickelte Donald Gleason einen Score, der eine histologische Beurteilung des Prostatakarzinoms ermöglicht. Im Gleason-Score wird der Entdifferenzierungsgrad der häufigsten und zweithäufigsten Zellpopulation des Prostatakarzinoms dargestellt (Gleason, 1992).

Die anschließende Tabelle 2 beschreibt für die einzelnen Gleason-Grade die typischen histologischen Erkennungsmerkmale. Die Einteilung umfasst 5 Muster, wobei Gleason 1 die am besten differenzierten Tumoren und Gleason 5 die am schlechtesten differenzierten Tumoren beschreibt. Der Gleason-Score addiert sich aus den beiden vorherrschenden Gleasonmustern. Liegt nur ein Grad vor, so wird der Wert verdoppelt. Dementsprechend können Gleason-Scores von 2-10 auftreten, in Klammern erfolgt die Angabe der vorkommenden Muster, z.B. Gleason 5 (2+3). Im Gegensatz zum WHO-Grading werden keine zytologischen Malignitätskriterien berücksichtigt. Das Gleason-Grading hat eine hohe prognostische Aussagekraft hinsichtlich des Zusammenhangs zwischen Tumortyp und Überlebenszeit. Dabei haben Prostatakarzinome mit einem Gleason >7 eine deutlich ungünstigere Prognose.

Tabelle 2: Histologische Einteilungskriterien nach dem Gleason-Grading

Gleason 1	Umschriebene Knoten von einheitlichen, einzelnen, enggepackten und glatt begrenzten Drüsen.
Gleason 2	Drüsen eher locker angeordnet, noch umschrieben. Minimale Ausbreitung der neoplastischen Drüsen in das umgebende Stroma.
Gleason 3	Tumor infiltriert das umgebende Prostatagewebe. Die Drüsen variieren erheblich in Größe und Gestalt, sind aber abgrenzbare Einheiten.
Gleason 4	Die Drüsen sind nicht länger einzeln und abgegrenzt, sondern scheinen verschmolzen mit unregelmäßigen Grenzen.
Gleason 5	Aufhebung der glandulären Differenzierung. Die Tumoren bestehen aus soliden Nestern, Strängen oder Einzelzellen.

Die folgende Abbildung 3 zeigt die 5 Wachstumsmuster des Adenokarzinoms der Prostata nach dem modifizierten Gleason-Grading durch die ISUP-Konsensuskonferenz von 2005, schematisiert nach Gleason (Gleason, 1992; Helpap, 2007). Dieses modifizierte Grading unterscheidet sich vorrangig im Muster 3 und 4 von dem konventionellen Gleason-Grading (Epstein et al., 2005). Zusätzlich wird im modifizierten Gleason-Grading gefordert, dass die verschiedenen Muster, ob vorherrschend oder gering ausgeprägt, in den einzelnen Stanzen als Tumorprozentsatz anzugeben sind. Außerdem sollte in der Prostatastanzbiopsie der Endbefund aus dem häufigsten und dem schlechtesten Muster bestehen, auch wenn der high - grade Anteil weniger als 5% ausmacht. Wenn bei radikalen Prostatektomiepräparaten neben den beiden häufigsten Mustern noch ein Drittes „schlechter differenziertes“ gefunden wird, ist dieses als tertiäres Muster im Befund anzugeben.

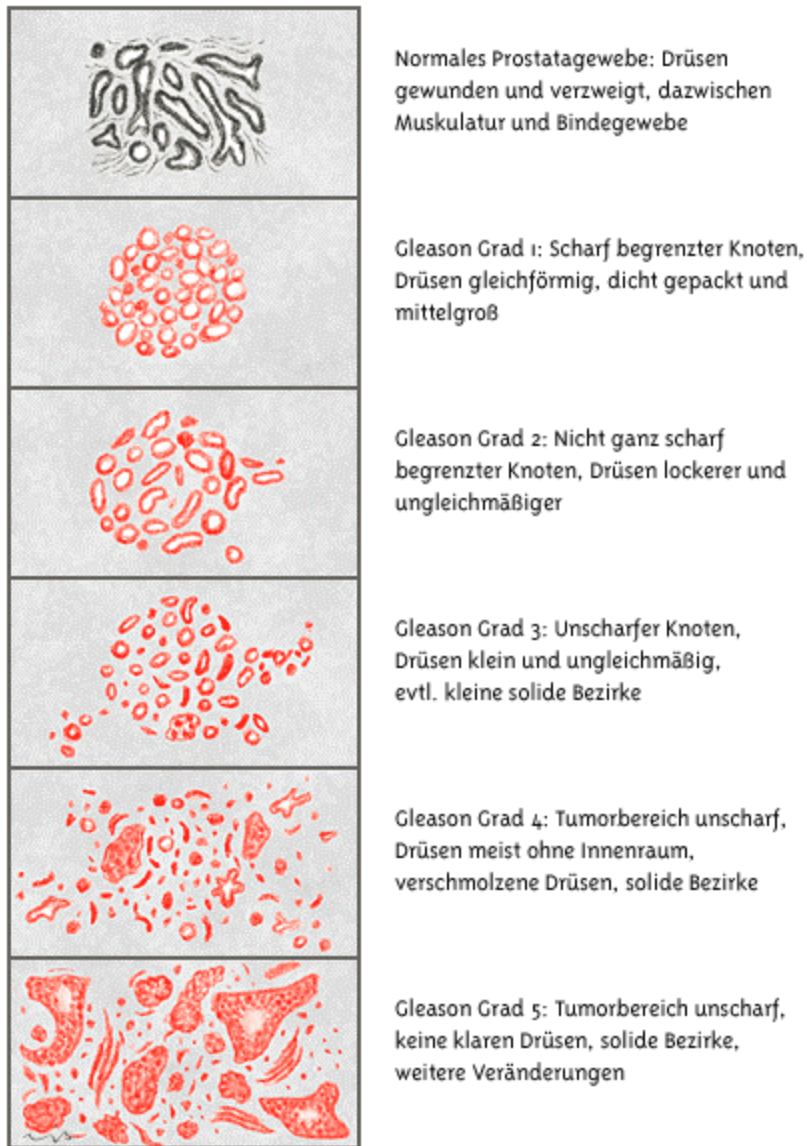


Abbildung 3: Wachstumsmuster des Prostatakarzinoms nach Gleason, (Gleason, 1992)

Bildquelle: Internet <http://www.prostata.de>

2.2.2.2. WHO-Grading

Nach der Mostofi-Einteilung von 1975 werden 3 Malignitätsgrade unterschieden, die auf dem histozytologischen Anaplasiegrad mit Beurteilung der Kerngröße und -gestalt, Chromatinverteilung, Nukleolen und strukturellem Differenzierungsgrad basieren (Tabelle 2). Als hochdifferenziert werden Karzinome (G1) bezeichnet, die Ähnlichkeiten zu normalem Drüsengewebe aufweisen. Prostatakarzinomformen (G3) mit starken Abweichungen vom normalen Zellbild werden als niedrig differenziert eingestuft. Die Gesamtbeurteilung richtet sich nach dem ungünstigsten Grad. (Mostofi, 1975). Durch die Beurteilung des Differenzierungsgrades der Zellen wird indirekt eine Abstufung von deren Aggressivität und

Malignität vorgenommen. Die nachfolgende Tabelle 3 stellt die Kriterien der einzelnen Grade dar.

Tabelle 3: Einteilungskriterien des Prostatakarzinoms nach dem WHO-Grading

A: Drüsige Differenzierung		B: Kernaplasie
G1	Einfache Drüsen, mit papillären Strukturen	Gering
G2	Verschmolzene Drüsen mit kribriformen Muster	Mäßig
G3-4	Nur wenig oder abortive Drüsenbildung (bei völligem Fehlen liegt ein undifferenziertes Karzinom vor)	Stark

2002 wurde diese WHO-Klassifikation weiterentwickelt. Score 1-5 stellt die zunehmende Entdifferenzierung der Drüsen dar und wird mit einem Score 1-3, der zunehmende Zellkernabweichungen darstellt, addiert. Daraus ergeben sich als Summen die WHO-Grade 2-8.

2.2.2.3. Grading nach dem pathologisch-urologischen Arbeitskreis „Prostatakarzinom“ von Helpap.

Bei dem Grading nach dem pathologisch-urologischen Arbeitskreis „Prostatakarzinom“ handelt sich um ein kombiniertes histologisch-zytologisches Grading, da es sowohl die Architektur des Tumorgewebes (drüsige, kribiforme oder solide Karzinomanteile) als auch den Grad der Kernanaplasie berücksichtigt (Helpap et al., 1985). Die Einteilung von GI bis III entspricht der zunehmenden Entdifferenzierung (Dhom). Die Gradeinteilung setzt sich aus zwei verschiedenen Scores zusammen. Der erste Score 0-3 spiegelt die zunehmende Gewebeabweichung wider und der zweite Score 0-2 stellt die zunehmenden Zellkernabweichungen dar. Eine Summe der beiden Scores von 0 bis 1 ergibt G I, von 2 bis 3 G II und von 4-5 GIII (Müller). Nach speziellen Zellkernveränderungen wird eine weitere Unterteilung aller Grade in a und b (GI a bis GIII b, Helpap) vorgenommen.

Alle 3 Grading-Systeme zielen darauf ab, den Krankheitsverlauf vorherzusagen. International überwiegt die prognostische Abschätzung des Prostatakarzinoms mittels Gleason-Einteilung.

Die folgende Tabelle 4 zeigt eine vergleichende Gegenüberstellung der Gradingssysteme mit abgeleiteten Diagnosen (Helpap, 2002). Ab einem Gleason-Score 7b, WHO-Grading 5-6 oder Helpap GIIb wird eine ungünstige Prognose angenommen.

Tabelle 4: Gegenüberstellung der 3 Gradingssysteme zur Malignitätseinteilung

Prostatakarzinom (= PC)	Gleason-Score	WHO (2002)	Helpap
Low grade PC (niedriggradig, hoch differenziert)	2-4	2	GIIa-b
Intermediate grade PC (mäßiggradig, mäßig differenziert)	5-7a (7a=3+4)	3-4	GIIa
High grade PC (hochgradig, mäßig bis wenig differenziert)	7b (=4+3)	5-6	GIIb
High grade PC (hochgradig, wenig differenziert bis undifferenziert)	8-10	7-8	GIIIa-b

2.2.3. TNM-Klassifikation des Prostatakarzinoms

Die Klassifikation der Union Internationale Contre le Cancer (UICC 2002) beschreibt das Stadium der Erkrankung wie folgt:

T = Größe und Ausdehnung des Primärtumors (siehe Abbildung 4, Tumor ist rot dargestellt)

X- nicht zu beurteilen

0- kein Anhalt für Primärtumor

1- klinisch nicht erkennbarer Tumor, nicht palpabel und nicht durch Bildgebung sichtbar

1a- Zufälliger histologischer Befund (inzident) in <5% des resezierten Gewebes

1b- Zufälliger histologischer Befund (inzident) in >5% des resezierten Gewebes

1c- Diagnose durch Nadelbiosie (erhöhter PSA Wert)

2- Tumor begrenzt auf Prostata

2a- Höchstens eine Hälfte eines Lappens befallen

2b- mehr als die Hälfte eines Lappens befallen

2c- Befall beider Lappen

3- Extrakapsuläre Ausbreitung (Infiltration des Apex oder Prostatakapsel ohne Durchbruch gilt als T2)

3a- Uni- und bilateraler Kapseldurchbruch

3b- Tumor befällt Samenblase

4- Tumor infiltriert Nachbarstrukturen

4a- Blasen Hals, Sphinkter oder Rektum

4b- Levatormuskel oder Fixation an Beckenwand

N = Tumorbefall der regionalen Lymphknoten.

0- Kein Befall

1- Regionäre Lymphknotenmetastasen.

X- nicht zu beurteilen

M = Nachweis von Fernmetastasen.

0- keine Fernmetastasen

1- Fernmetastasen

1a- in nicht regionären Lymphknoten

1b- Knochenmetastasen

1c- andere Lokalisationen

X- unklar.

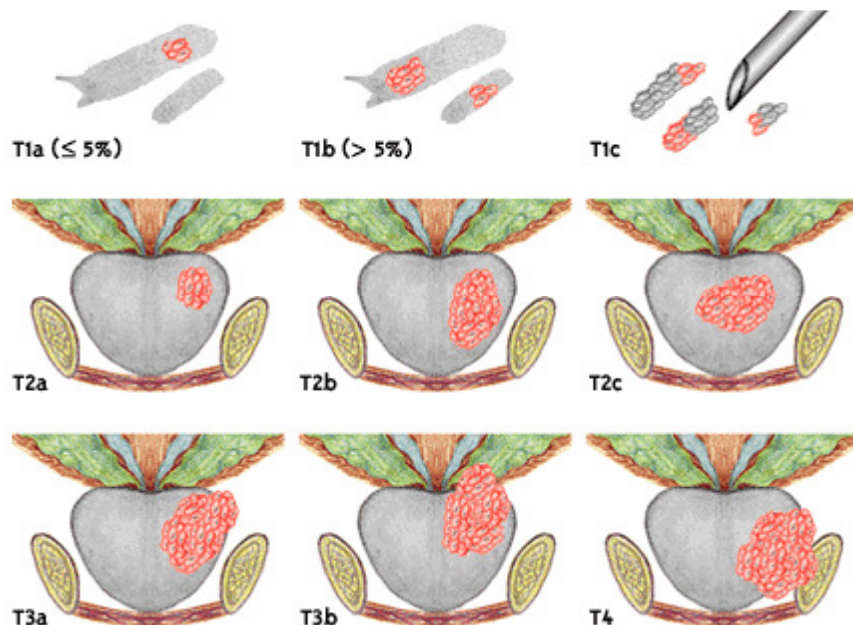


Abbildung 4: Wachstumsstadien des Prostatakarzinoms nach UICC (UICC & Wagner G, 2002);
Bildquelle: Internet: <http://www.prostata.de>

2.3. Klinische Problematik des Prostatakarzinoms

Das Prostatakarzinom bleibt lange symptomlos. Insbesondere in seiner kurativen Phase, treten keine typischen Symptome auf. Unspezifische Beschwerden wie eine irritative Miktions symptomatik mit Pollakisurie, Nykturie, Dysurie, seltener Hämaturie oder Hämospemie können auftreten. Ausgedehnte Tumoren können zu einem Defäkationsschmerz führen. Kreuzschmerzen oder ischalgische Schmerzen sind oftmals hinweisend auf eine Skelettmetastasierung. Patienten mit einem symptomatischen Prostatakarzinom weisen oft ein inkurables Tumorstadium auf. Das diagnostische und therapeutische Fenster wird einerseits begrenzt durch Karzinome, die zu klein sind, um klinisch relevant zu werden, und andererseits durch solche, die bereits so groß sind, dass ein kurativer Therapieansatz bereits nicht mehr möglich ist (Schmid H-P, 1999). Entscheidend für die Früherkennungsrate sind Vorsorgeuntersuchungen oder Screeningtests.

2.3.1. Screening-Tests

Zur Früherkennung können zum Ausschluss oder Nachweis 3 unterschiedliche Untersuchungsmethoden angewandt werden.

1. Die digitale-rektale Untersuchung (DRU) ist die älteste Methode und hängt von der Schulung und Erfahrung des Untersuchers ab. Positive Vorhersagewerte bewegen sich zwischen 21 und 51% (Miller und Weißbach, 1999). Tastbare Karzinome der Prostata sind meist ausgedehnte Befunde mit bis zu 50-60% kapselüberschreitendem Wachstum. Somit ist die alleinige digitale-rektale Palpation laut Leitlinien der DGU keine Früherkennungsuntersuchung .
2. Der transrektale Ultrallschall (TRUS) ist in einem noch größeren Maße von dem Untersucher abhängig. Prostatakarzinome stellen sich typischerweise als echoarme Areale in den peripheren Zonen der Drüse dar. Diese hypodensen Bereiche enthalten in nur 20-30% der Fälle maligne Zellen. Bioptiert man nur diese Areale, würde man 25% der Prostatakarzinome nicht erfassen. Als alleinige Screeningmethode ist die Sonographie der Prostata nicht ausreichend, da hinsichtlich eines Prostatakarzinoms keine hohen positiven Vorhersagewerte erreicht werden. Die Leitlinien der DGU bewerten den transrektalen Ultraschall im Rahmen der Primärdiagnostik als ungeeignet.

3. Das Prostataspezifische Antigen (Erstbeschreiber Wang) hat die Diagnostik und Therapieüberwachung deutlich verbessert (Wang et al., 1979). International liegt der Cut-off-Wert derzeit bei 4 ng/ml. Ein Versuch, diesen Wert zu senken, scheiterte bisher aufgrund der inakzeptablen Spezifität, niedrigen Entdeckungsraten des Prostatakarzinoms, dem zu vernachlässigenden Anstieg der Überlebensrate und der Angst vor einer Übertherapie des Prostatakarzinoms.

In der nachfolgenden Tabelle 5 sind die unterschiedlichen Screeningmethoden und ihre jeweiligen Spezifitäten, Sensitivitäten und positiven Vorhersagewerte gegenübergestellt.

Tabelle 5: Vergleich von Screeningmethoden in größeren Serien

Screeningmethode	Sensitivität in %	Spezifität in %	Positiver Vorhersagewert (PPV) in %
Rektale Palpation (DRU)	56	94	33
Rektaler Ultraschall (TRUS)	77	81	29
PSA (> 4 ng/ml)	82	87	40

Im Vergleich der verschiedenen Screeningtests in Tabelle 5 zeigt sich bei einem positiven PSA-Wert der höchste prädiktive Wert und die höchste Sensitivität (Cantor et al., 1995; Kirkels & Rietbergen, 1997).

Eine Kombination der verschiedenen Untersuchungsverfahren erhöht den Vorhersagewert deutlich.

- DRU pos., PSA neg., TRUS neg. = 6,4%
- DRU neg., PSA neg., TRUS pos. = 9,1%
- DRU neg., PSA pos., TRUS neg. = 19,6%
- DRU neg., PSA pos., TRUS pos. = 26,6%
- DRU pos., PSA pos., TRUS pos. = 45,2%

2.3.2. Prostataspezifisches Antigen (PSA)

Das prostataspezifische Antigen ist eine Glykoprotein-Serin-Protease und wird zur Verflüssigung des Ejakulats in den Drüsenzellen der Prostata gebildet. Im Seminalplasma liegt die Konzentration bei 0,3-3 mg/ml und ist damit um den Faktor 1000 höher als im

Serum. Die Expression des prostataspezifischen Antigens wird genetisch gesteuert und von Testosteron/ Dihydrotestosteron stimuliert. So erklärt sich auch der PSA-Konzentrationsabfall bei Testosteronmangel, der durch Kastration oder hormonellen Entzug bedingt sein kann.

Ein Anstieg des PSA-Wertes ist bei benigner Prostatahyperplasie, entzündlichen Prozessen, Manipulationen an der Drüse und dem Prostatakarzinom zu erwarten. Die Serumkonzentration steigt aufgrund eines Durchbrechens der Gewebeschranke zwischen Drüsenlumina und dem Gefäßsystem.

Der PSA-Wert dient der Verlaufskontrolle im Rahmen der Nachsorgeuntersuchung bei Prostatakarzinompatienten und ist gleichzeitig ein wichtiger Früherkennungsfaktor. Besondere Bedeutung erlangt der PSA-Wert bei der Früherkennung speziell von nicht palpablen Prostatakarzinomen. Diese sind häufig noch organbegrenzt und damit potenziell kurativ behandelbar. Aktuell wird ein PSA-Wert ≥ 4 ng/ml als erhöht gewertet. Ab diesem Cut-off-Wert sollte ein Prostatakarzinom mittels Stanzbiopsie oder transurethraler Prostataresektion ausgeschlossen werden. Das Auftreten von Prostatakarzinomen in PSA-Bereichen zwischen <4 und >10 ng/ml reicht von 20% bis 55%. Wie in Tabelle 7 dargestellt steigt mit zunehmenden PSA-Wert die Wahrscheinlichkeit eines Prostatakarzinoms.

Tabelle 6: Entdeckungsrate organbegrenzter bzw. organüberschreitender Prostatakarzinome durch DRU und PSA (Leitlinien der DGU zur PSA-Bestimmung in der Prostatakarzinomdiagnostik)
Internet: <http://www.krebsgesellschaft.de>

Methode	Organbegrenzt Prostate-Ca	Organüberschreitendes P-Ca
DRU	30%	70%
PSA $< 4,0$ ng/ml	90%	10%
PSA 4,1-9,9 ng/ml	70%	30%
PSA $>10,0$ ng/ml	50%	50%

Gleichzeitig sinkt mit ansteigendem PSA-Wert der Anteil der organbegrenzten Tumoren (siehe auch Tabelle 7), bei einem PSA > 50 ng/ml fällt der Anteil auf $\leq 7\%$ und die Inzidenz der Lymphknotenmetastasen erhöht sich deutlich (Partin et al., 2001).

Der Festlegung des Cut-off-Wertes kommt eine große Bedeutung zu. Bei einem niedrigen Normalwert erhöht sich die Sensitivität und es werden auch Prostatakarzinome diagnostiziert, die möglicherweise nicht klinisch relevant sind. Außerdem steigt aufgrund der niedrigen Spezifität die Zahl der unnötig biopsierten Patienten. Bei einer Erhöhung des Cut-off-Wertes

reduziert sich zwar die Anzahl der unnötig biopsierten Patienten, gleichzeitig erhöht sich jedoch die Anzahl der nicht mehr organbegrenzten Prostatakarzinome und damit verschlechtert sich die Prognose des Patienten.

Tabelle 7: Häufigkeitsverteilung von Prostatakarzinomen in verschiedenen PSA-Bereichen (Horninger et al., 2001; Prestigiacomo & Stamey, 1995)

PSA-Bereich	Prestigiacomo et al. 1995	Horninger et al. 2001
< 4,0 ng/ml	20 %	21 %
4,0-10,0 ng/ml	25 %	55 %
> 10 ng/ml	55 %	25 %

Momentan kann die eingeschränkte Tumorspezifität des PSA-Wertes von 54% bei einer Sensitivität von 80-88% im diagnostischen Graubereich von 4,0 bis 10 ng/ml durch zusätzliche Tests erhöht werden (Berg W. und Schubert J., 2003). Neben der Berechnung „Quotient aus PSA und Volumen der Prostata“ (PSAD), PSA-Anstiegsgeschwindigkeit (PSAV), PSA-Verdopplungszeit und dem altersadjustierten PSA-Wert ist die Bestimmung des freien, unkomplexierten PSA gegenüber dem Gesamt-PSA die am häufigsten angewandte Methode. Im Serum liegt das PSA zu 5-40% in freier Form (fPSA) vor. Der größte Anteil des prostataspezifischen Antigens ist im Serum an α_1 - Antichymotrypsin gebunden. Lilja et al. fanden einen freien PSA-Anteil von 18% im Falle eines Prostatakarzinoms und von 28% beim Vorliegen einer BPH. (Lilja et al., 1991). Es kommt also zu einer Abnahme des freien Anteils des PSA, wenn ein Prostatakarzinom vorliegt.

2.3.3. Diagnostik des Prostatakarzinoms

Die standardisierte, ultraschallgestützte Biopsie ist der digital geführten Biopsie in der Effizienz und in der prognostischen Aussagekraft überlegen. Dabei korrelieren die Karzinomfindungsraten mit der Biopsiezahl und die Anzahl der karzinombefallenen Stenzen mit dem Tumervolumen und –stadium.

Eine Biopsie erfolgt bei suspektem rektalen Tastbefund oder einer PSA-Werterhöhung >4 ng/ml ultraschallgesteuert in der Regel als Sextantenbiopsie. Aus beiden Seitenlappen werden entsprechend 3 Gewebezylinder (apikal, zentral und basal) entnommen und zur histologischen

Untersuchung eingeschickt. Aufgrund der Heterogenität, des multifokalen Wachstums und der interindividuellen Reproduzierbarkeit zwischen verschiedenen Pathologen wird der Differenzierungsgrad oft unterschätzt und sollte bei Therapieentscheidungen nicht als alleiniges Kriterium berücksichtigt werden.

Nach stanzbioptischer Sicherung eines Prostatakarzinoms sind zur Festlegung der weiteren Therapie und Stadieneinteilung zusätzliche Untersuchung wie die Zystoskopie notwendig.

Das Knochenszintigramm ist derzeit die Methode der Wahl zum Ausschluss von Knochenmetastasen. Aufgrund einer Korrelation des PSA-Wertes mit dem Auftreten von Knochenmetastasen ist ein Knochenszintigramm bei deutlich erhöhten PSA-Werten (>10 ng/ml) oder schlecht differenzierten Prostatakarzinomen sinnvoll. Knochenmetastasen sind in nur 0,2-1,7% der Fälle bei PSA-Werten unter 10 ng/ml knochenszintigrafisch nachweisbar (Huncharek & Muscat, 1995).

Seit 1997 besteht die Möglichkeit anhand der Partin-Tabellen einen definitiven pathologischen Zustand vorherzusagen. Für die Tabellen werden drei Faktoren miteinander in Zusammenhang gesetzt – der PSA-Wert, die Gleason-Summe und das klinische Stadium. Im Jahr 2001 wurden die Tabellen aktualisiert und präzisiert (Partin et al., 1997; Partin et al., 2001).

2.3.4. Therapie des Prostatakarzinoms

Therapieentscheidend sind prognostische Faktoren, die sich auf das klinische Stadium, den PSA-Wert, Gleason-Score und das Grading des Biopates stützen, das biologische Alter und der Wunsch des Patienten. Die kurative Therapie der Wahl ist beim lokal begrenzten Prostatakarzinom die radikale Prostatovesikulektomie. Vorzugsweise wird diese zumeist noch retropubisch durch eine mediane Unterbauchlaparotomie durchgeführt. Zunehmend erfolgt dieser Eingriff auch laparoskopisch (transperitoneal oder retroperitoneal).

Die primäre kurative Strahlentherapie wird bei organbegrenzten Tumoren nur bei älteren oder multimorbiden Patienten angewandt. Außerdem kommt sie bei sehr kleinen oder örtlich fortgeschrittenen Tumoren als Alternative zur operativen Therapie in Frage.

Eine Hormontherapie wird häufig in Kombination mit einer Bestrahlung angewandt. Als Monotherapie kommt sie nicht als kurative Therapie beim lokal begrenzten Prostatakarzinom in Frage, hat jedoch Bedeutung beim lokal fortgeschrittenen oder metastasierten Prostatakarzinom oder bei älteren nicht operationsfähigen Patienten. Ein Testosteronentzug

ist durch eine Orchiektomie, durch die Gabe von steroidalen oder nichtsteroidalen Antiandrogenen wie Flutamid, Cyproteronacetat oder LH-RH-Agonisten möglich.

2.4. Molekularbiologische Aspekte des Prostatakarzinoms

Seit 1928 ist aus den Arbeiten von Bauer bekannt, dass Krebs eine Erkrankung auf der Grundlage von Mutationen somatischer und germinaler Zellen ist (Bauer KH, 1963). Normales gesundes Gewebe unterliegt einem Gleichgewicht zwischen Zelltod (Apoptose) und Zellteilung. Dagegen weisen maligne transformierte Gewebe Veränderungen auf, die ihnen ein autonomes Wachstum ermöglichen. Wichtige Merkmale maligner Zellen sind Verluste der Kontakthemmung zwischen Zellen, eine reduzierte Apoptose, erhöhte Proliferationsraten aufgrund entkoppelter Zellzykluskontrolle, Dissemination in die gesunde Umgebung, Neigung zur Invasion und Metastasierung und Entzug aus der immunologischen Abwehr. Die Mehrschrittkarzinogenese ist ein Zusammenspiel von verschiedenen Faktoren. Unter anderem sind initiiierende und promovierende Mutationen beteiligt (Weinberg, 1989).

Die schrittweise Akkumulation genetischer Veränderungen in Onkogenen, Tumorsuppressorgenen und Reperaturgenen der DNA führt schließlich zur Karzinogenese und Tumorprogression. Genotypische Veränderungen treten vor phänotypischen Veränderungen auf. Im Gegensatz zu zytologischen oder histologischen Verfahren sind molekulargenetische Untersuchungen in der Lage, diese Veränderungen zu erfassen.

2.4.1. Genetik des Prostatakarzinoms

Obwohl das Prostatakarzinom zu den häufigsten Tumoren gehört, sind aufgrund der Heterogenität des Tumors die molekulargenetischen Mechanismen, die zur Entstehung des Prostatakarzinoms führen, weitgehend unerforscht. Dennoch ist ein Mehrschritt-Modell der Krebsentstehung für das Prostatakarzinom wahrscheinlich (Bott et al., 2005). Die Entstehung einer Tumorzelle geschieht nicht nach dem „Alles oder Nichts Prinzip“, sondern ist eine Anhäufung von multiplen genetischen Veränderungen. Diese führen zu unkontrolliertem Wachstum, Blockierung der Differenzierung, Störung des normalen programmierten Zelltodes (Apoptose) und letztendlich zur Tumorzellinvasion und Disseminierung. Die Transformation der Zellen erfolgt dabei durch die Aktivierung von Onkogenen (meist durch Mutation oder Genamplifikation), gepaart mit Verlust oder Inaktivierung von Tumorsuppressor-Genen.

Mutationen kennzeichnen Gene, die signifikant dazu beitragen, dass eine Zelle entartet. Inaktivierende (loss-of-function) Mutationen definieren Tumor-Supressor-Gene, dem gegenüber charakterisieren aktivierende (gain-of-function) Mutationen Onkogene. Mutationen in Onkogenen und Tumorsuppressorgenen des Prostatakarzinoms konnten zwar nachgewiesen werden, jedoch nicht die entscheidenden Gene, welche die zentralen regulatorischen Signalwege in der Prostata kontrollieren.

2.4.1.1. Sporadische Formen des Prostatakarzinoms

Beim Prostatakarzinom stehen eine Vielzahl sporadischer Fälle einem geringen Anteil genetisch bedingter familiärer Fälle gegenüber. Ungefähr 25% aller Männer mit Prostatakarzinom haben eine positive Familiengeschichte, aber nur 9% davon die hereditäre Form eines Prostatakarzinoms (Carter et al., 1993). Von einem sporadischen Prostatakarzinom spricht man, wenn nur ein Familienmitglied pro Familie erkrankt ist.

Die klassische Kopplungsanalyse, die mit über das gesamte Genom verstreuten Markern als „genome wide scan“ durchgeführt wird und als Ziel die Identifikation eines entsprechenden Gens durch eine Positionsklonierung hat, ist eine der ersten Methoden, um genetische Faktoren zu identifizieren. Heute kommen auch SNP-Analysen (Single Nucleotide Polymorphism) zum Einsatz.

Etabliert haben sich weitere Methoden wie die CGH (komparative genomische Hybridisierung) und FISH (Fluoreszenz in situ Hybridisierung) zur Untersuchung des Genoms (Pinkel et al., 1986). Mit diese Methoden konnte eine deutlich höhere Auflösung durch die Hybridisierung auf Metaphase-Chromosomen oder Interphase-Kernen der Tumoren erreicht werden. Während des letzten Jahrzehnts erbrachten zytogenetische Analysen und die Entwicklung und Anwendung der CGH von Prostatakarzinomen eine Anzahl von spezifischen genetischen Veränderungen (Cher et al., 1996; Fu et al., 2000b; Torring et al., 2007; Visakorpi et al., 1995b).

Genetische Veränderungen, die beim Prostatakarzinom beobachtet werden, sind hauptsächlich Verluste von chromosomalen Regionen wie z.B. des kurzen Armes des Chromosom 8, des langen Armes des Chromosom 16 und des Chromosom 17p, wobei Verluste etwa fünfmal häufiger beschrieben sind als Zugewinne (Isaacs et al., 1994). Während Verluste von genetischem Material in früheren Stadien des Prostatakarzinoms vorherrschen (Dong, 2001), werden Zugewinne vorwiegend in fortgeschrittenen Stadien des Prostatakarzinoms gefunden (Nupponen & Visakorpi, 1999). Die häufigsten chromosomalen Veränderungen finden sich

in abnehmender Reihenfolge auf Chromosom 8 (Nupponen & Visakorpi, 2000), 13 (Hyytinen et al., 1999), 7 (Akers et al., 2000), 10 (Leube et al., 2002).

Zytogenetische Daten aus Chromosomenanalysen und CGH -Untersuchungen berichteten von einem Zugewinn von 7q. Auch eine Zunahme von genetischem Material in Form ganzer Chromosomen oder Chromosomenabschnitte (7, 8q) und Amplifikation z.B. des Androgenrezeptorgens wurden in Prostatakarzinomen nachgewiesen (Haapala et al., 2007; Roylance et al., 1997; Visakorpi et al., 1995a). Diese Befunde unterstreichen die komplexen genetischen Mechanismen, die bei der Entstehung und Progression von Prostatakarzinomen, ähnlich den bei anderen Karzinomen, bedeutsam sind. Häufige DNA-Sequenz-Amplifikationen von Chromosom 7, 8q und 11q deuten möglicherweise auf die Lokalisation von Onkogenen hin. El Gedaily et al. fanden zusätzliche Amplifikationen in den Chromosomen 1, 10 und 17 (El Gedaily et al., 2001). In frühen Tumoren wurden vor allem Verluste der Chromosomenarme 6q, 13q und 8p gefunden, die mit der Entstehung des Prostatakarzinoms assoziiert werden (Akers et al., 2001; He et al., 1997; Macoska et al., 1995). In fortgeschrittenen und metastasierten Tumoren konnten vorwiegend Zugewinne auf den Chromosomen 1q, 7q, 8q und Xq nachgewiesen werden (Akers et al., 2001; van Dekken et al., 2003).

Durch LOH- (loss of heterocygosity) Analysen konnten progressionspezifische Verluste spezieller Chromosomenregionen bereits bekannten Tumorsuppressorgenen zugeordnet werden. Verluste auf dem Chromosom 17p konnten mit dem p53-Gen in Verbindung gebracht werden (Aprikian et al., 1994; Bookstein et al., 1993). Ebenfalls konnten die Verluste der Chromosomenregion 13q14 mittels LOH dem Retinoblastom-prädisponierenden Gen 1 (RB1-Gen) zugeordnet werden (Bookstein et al., 1990; Brooks et al., 1995) (Latil et al., 2003).

Veränderungen des Chromosoms 8, als eine der häufigsten Aberrationen, sind mit einem aggressiveren Verhalten des Prostatakarzinoms assoziiert. Dies zeigt sich übereinstimmend in unterschiedlichen Studien mittels CGH, FISH oder Mikrosatelliten-Untersuchungen. In verschiedenen Studien wurden Zusammenhänge zwischen Chromosom 8 und einem höheren Tumorstadium und höherem Tumorgrad (Akers et al., 2000; Matsuyama et al., 2003; Tsuchiya et al., 2002), höheren Metastasierungs- und Rezidivraten (Macoska et al., 2000; Steiner et al., 2002) sowie einer höheren Mortalität (Jenkins et al., 1998; Sato et al., 1999) gefunden.

2.4.1.2. Hereditäres Prostatakarzinom

Schon im Jahr 1956 stellte Morganti fest, dass in einigen Familien das Prostatakarzinom gehäuft vorkommt (MORGANTI et al., 1956). Bestätigt wurden diese Beobachtungen in Studien an den großen Mormonenfamilien in Utah, bei denen teilweise 20 Erkrankungsfälle pro Familie auftraten (Cannon L et al., 1982). Eine positive Familiengeschichte ist derzeit neben dem Alter der wichtigste und bekannteste Risikofaktor des Prostatakarzinoms. Durchschnittlich besteht ein etwa zweifach erhöhtes Risiko bei Angehörigen eines betroffenen Verwandten ersten Grades. Mit zunehmender Zahl der Betroffenen bzw. abnehmendem Manifestationsalter steigen die relativen Risiken der Angehörigen.

In 10-15% der Fälle geht man von einem familiären Prostatakarzinom aus, d.h. mindestens ein weiteres Familienmitglied ist ebenfalls an Prostatakrebs erkrankt. Gründe für eine positive Familienanamnese können Ernährungsfaktoren, ein Gen mit reduzierter Penetranz oder Zufall sein, also zählen auch diese Fälle der familiär gehäuften Prostatakarzinome zum Teil zu den wahrscheinlich sporadisch entstandenen Tumoren.

Eine Unterscheidung zwischen einem familiären und einem hereditären Prostatakarzinom ist anhand der von Carter aufgestellten Kriterien möglich. Eine Familie mit einem hereditären Prostatakarzinom muss

- mindestens 3 Betroffene in aufeinanderfolgenden Generationen,
- mindestens 3 Betroffene Verwandte ersten Grades oder
- 2 Brüder mit einem Erkrankungsalter unter 55 Jahren aufweisen. (Carter et al., 1993)

Familiäre Prostatakarzinome erfüllen diese Kriterien nicht. Die Ätiologie eines hereditären Prostatakarzinoms ist höchst wahrscheinlich auf die Veränderung in einem oder mehreren Genen zurückzuführen, welche eine hohe Suszeptibilität für Prostatakarzinome bewirkt. Eine sichere Unterscheidung von hereditären und nichthereditären Fällen, wie z.B. bei der familiären Adenomatosis Polyposis oder dem familiären Mammakarzinom durch molekulargenetische Diagnostik, ist beim Prostatakarzinom derzeit nicht möglich. Für viele Neoplasien sind prädisponierende Gene (sog. Suszeptibilitätsgene) und deren Funktion bekannt. Das Prostatakarzinom stellt hier eine Ausnahme dar. Mittlerweile sind aber mittels Kopplungsanalysen und genomweiten Scans eine Reihe von potentiellen Loci und Suszeptibilitätsgenen identifiziert worden. Die erste genomweite Kopplungsanalyse erbrachte 1996 einen prädisponierenden Locus auf dem Chromosom 1q24 (HPC1, hereditäres Prostatakarzinom) und in einer Reanalyse zeigte sich, dass die Kopplung in Familien mit

mehr als 5 Erkrankten und frühen Erkrankungsalter besonders deutlich ist (Gillanders et al., 2004; Gronberg et al., 1997b; Smith et al., 1996a). Verschiedene Studien lassen auf den Chromosomen 1,20 und X Suszeptibilitätsgene vermuten (Berry et al., 2000; Xu et al., 1998). 2003 konnten Lange et al. das Chromosom 17q als ein mögliches Suszeptibilitätsgen identifizieren und 2004 konnten auch Gillanders et al. das Chromosom 17q22 als Ort der stärksten Kopplung beim Prostatakarzinom feststellen (Gillanders et al., 2004; Lange et al., 2003). Erbliche Prostatakarzinome, die in mehreren Generationen auftreten, kommen bei ca. 9% aller Prostatakarzinome vor. Mutationen bei erblichen Prostatakarzinomen wurden unter anderem auf den Chromosomen 1q25 (Carpten et al., 2002; Smith et al., 1996b), 10q25 (Eagle et al., 1995), 17p11 (Tavtigian et al., 2001), Xq12 (Mononen et al., 2000) gefunden. In den meisten Fällen wird bei einem vererbten Prostatakarzinom von einer autosomal-dominanten Vererbung ausgegangen (Schaid et al., 1998). Die höhere Wiederholungswahrscheinlichkeit bei Brüdern ließen Narod einen autosomal rezessiven und Monroe einen X-chromosomal gekoppelten Vererbungsmodus vermuten (Monroe et al., 1995; Narod et al., 1995). Nwosu fand ebenfalls in einigen Familien Hinweise auf einen autosomal-rezessiven oder X-chromosomal erblichen Erbgang (Nwosu et al., 2001). Eine finnische Studie zeigte in einer Segregationsanalyse mit 1.546 Prostatakarzinomfamilien ebenfalls einen rezessiven Erbgang (Pakkanen et al., 2007).

In einer Segregationsanalyse ausgehend von 691 Familien, die über einen einzelnen an Prostatakarzinom erkrankten Probanden erfasst wurden, konnte Carter 1992 zeigen, dass sich die familiäre Häufung am besten mit autosomal dominanter Vererbung eines Hochrisikoallels mit einer Genfrequenz von 0,003 für das sich früh manifestierende Prostatakarzinom erklären lässt (Carter et al., 1992).

Das Risiko für andere Tumorerkrankungen ist bei Familien mit hereditärem Prostatakarzinom nicht signifikant erhöht (Gronberg et al., 1997a).

2.5. CGH

Die "Comparative Genomic Hybridization" (CGH) ist eine 1992 erstmals von Kallioniemi beschriebene Methode, die genomische Imbalancen in Tumoren mit zytogenetischer Auflösung darstellt (du et al., 1993; Kallioniemi et al., 1992; Kallioniemi et al., 1993). Als Untersuchungsmaterial kann frisch asserviertes, Paraffin- eingebettetes oder Formalin-fixiertes Gewebe verwendet werden. Dadurch ist es mit dieser Methode möglich, über Jahre

gesammeltes Material retrospektiv genetisch zu untersuchen. Diese Technik erlaubt eine simultane Erfassung unterschiedlicher genetischer Veränderungen (Imbalancen der Kopienzahl der Chromosomen und Amplifikationen/Deletionen). Der Ansatz der CGH ermöglicht, das ganze Genom mit einem Hybridisierungsexperiment hinsichtlich über- oder unterrepräsentierter DNA-Abschnitte zu untersuchen. Da die CGH keine Zellkultivierung erfordert, findet sie vor allem ihre Anwendung in der Tumorzytogenetik, (Weiss et al., 1999). Mit dieser Methode können Probleme der Zellkultivierung und der Auswertung komplexer Karyotypen bei der Chromosomenanalyse solider Tumoren umgangen werden (du et al., 1993; Storkel et al., 1996).

Hierbei wird die gesamte genomische DNA der zu untersuchenden Gewebeprobe parallel zur normalen DNA auf normale Metaphasechromosomen, die zum Beispiel aus Lymphozyten präpariert wurden, hybridisiert. DNA-Abschnitte, die im Tumorgenom über- oder unterrepräsentiert sind, können durch differenzielle Markierung von Test- und Referenz-DNA sichtbar gemacht werden. Die Betrachtung des gesamten Genoms ermöglicht einen schnellen Überblick über chromosomale Regionen, die an der Pathogenese und Progression von Tumoren beteiligt sein können. Zusätzlich kann durch die Spezifizierung der Art und Anzahl der Aberrationen eine genetische Tumorklassifikation vorgenommen werden (Petersen et al., 1996). Von besonderem Interesse in Bezug auf diese Arbeit ist, ob sich die CGH eignet, eine Progression im Sinne eines Tumorgradings vorherzusagen. Einige Arbeiten zeigen, dass mittels CGH Aussagen zur Prognose einer Tumorerkrankung gemacht werden können (Gronwald et al., 1997; Isola et al., 1995), Metastasen einem Primärtumor zugeordnet werden können (Weiss et al., 2003) oder Präneoplasien hinsichtlich schon bekannter Aberrationen der jeweiligen Tumorentität untersucht werden können (Heselmeyer et al., 1996).

Limitiert ist die CGH durch die begrenzte Sensitivität, die von der Größe der veränderten genetischen Region abhängt. Alterationen auf chromosomaler und subchromosomaler Ebene sind nachweisbar. Punktmutationen, Translokationen oder Inversionen sind mit der CGH nicht detektierbar. Einschränkungen der Sensitivität können durch Polyklonalität, Heterogenität des Tumors oder durch Kontamination mit gesunden Zellen verursacht sein. Mindestens 60% der untersuchten Zellen müssen eine entsprechende Veränderung aufweisen, um diese nachweisen zu können. Das Auflösungsvermögen der CGH beträgt ca. 10-20 Mb, damit sind Zugewinne und Verluste auf Chromosomen bis zu einer minimalen Größe von 10-20 Mb erfassbar (Bentz et al., 1998; Joos et al., 1993).

Ein Vorteil gegenüber der FISH-Technik ist die Unabhängigkeit der Detektion chromosomaler Anomalien von DNA-Sonden. Da bei der Fluoreszenz in situ Hybridisierung

nur die chromosomalen Regionen beurteilbar sind, für die entsprechende DNA-Sonden verwendet werden, muss bei vielen Fragestellungen bereits vor einem Experiment ausreichend Grundwissen über mögliche veränderte Regionen vorhanden sein. Deshalb wird die CGH als eine Art DNA-Screeninguntersuchung verwendet, um anschließend sensibleren molekulargenetischen Untersuchungstechniken wie FISH und DNA-Sequenzierungstechniken als Orientierungshilfe dienen zu können.

Eine Weiterentwicklung der CGH sind die Array-CGH und die Matrix-CGH mit DNA-Chips, mit denen eine höhere Auflösung und Sensitivität bei der Analyse von Regionen und Genen erreicht werden kann und damit zukunftssträchtige Verfahren in der molekulazytogenetischen Diagnostik darstellen (Inazawa et al., 2004; Snijders et al., 2003; Solinas-Toldo et al., 1997; Veltman et al., 2003; Wessendorf et al., 2002).

2.6. Zielstellung der Arbeit

Die Bewertung des Progressionsrisikos eines diagnostizierten Prostatakarzinoms stützt sich derzeit auf den Gleason-Score, den PSA-Verlauf, das Tumervolumen und postoperativ zusätzlich auf das R-Stadium. Diese Parameter können zu unterschiedlichen Behandlungsstrategien führen. Kann ein Prostatakarzinom nach dem Prinzip „Watchful waiting“ beobachtet werden oder muss eine radikalchirurgische Therapie vorgenommen werden und wann erreicht man mit einer zusätzlichen Radiatio eine höhere Heilungsquote?

Eine Grundlage zur Beantwortung dieser Fragen stellt die molekularbiologische Analyse des Prostatakarzinoms dar.

Ziel der Arbeit war es, spezifische genetische Veränderungen des Prostatakarzinoms unter Berücksichtigung des klinischen Verlaufes zu definieren. Folgende Fragestellungen sollen hierzu im Einzelnen beantwortet werden:

1. Sind spezifische genetische Muster des Prostatakarzinoms reproduzierbar?
2. Korrelieren die genetischen Veränderungen mit dem klinischen Verlauf und der histopathologischen Klassifizierung?
3. Können spezifische Veränderungen für die Progression definiert werden?

4. Ist eine Bewertung des Progressionsrisikos anhand genetischer Muster möglich?
5. Stellt sich die histologische Heterogenität auch genetisch dar?

3. Material und Methode

3.1. Patientengut

Eingeschlossen in die Arbeit wurden 53 Patienten mit einem Prostatakarzinom .

Bei 25 Patienten erfolgte zwischen 1998 und 1999 die radikale Prostatovesikulektomie in der Urologischen Klinik der Friedrich-Schiller-Universität Jena. Die Operationspräparate der 25 operierten Patienten wurden histologisch aufgearbeitet und anschließend markierte ein Referenzpathologe 3-4 Tumorareale je Prostata.

28 Patienten wurden primär hormonablativ behandelt. Bei diesen 28 Patienten waren Prostatastanzbiopsien zur Tumorsicherung durch niedergelassene Kollegen durchgeführt worden. Diese Biopsiezyylinder wurden ebenfalls durch einen Pathologen aufgearbeitet und die in paraffineingebetteten Tumorareale gekennzeichnet. Die Anzahl der Biopsiezyylinder variierte zwischen 1-6. Es wurden nur Biopsiezyylinder ausgewählt, in denen ausreichend Tumorgewebe (mind. 90%) für eine suffiziente weitere Aufarbeitung erfasst wurde.

Folgende Kriterien mussten erfüllt sein:

- Sicherung der Diagnose Prostatakarzinom durch die histologische Untersuchung
- Einverständnis des Patienten zur Verwendung seiner Daten und Materialien zu Forschungszwecken

Bei der ersten Patientengruppe handelt es sich um 25 männliche Patienten im Alter zwischen 50 und 70 Jahren zum Operationszeitpunkt. Der Altersmedian betrug 62 Jahre. Der präoperative PSA- Wert lag zwischen 2 und 325 ng/ml, im Median bei 10 ng/ml. Bei 14 Patienten war der PSA-Wert unter 10 ng/ml. 7 Patienten erhielten postoperativ eine Radiatio. Ein Patient ist im Jahr 2000 verstorben, jedoch nicht ursächlich am Prostatakarzinom. 3 Patienten haben bis heute Knochenmetastasen entwickelt. Bei 9 Patienten war keine Folgetherapie notwendig und 13 Patienten haben bisher kein PSA-Rezidiv.

Bei der zweiten Patientengruppe handelt es sich um 28 Patienten, bei denen wie üblich zur Diagnosesicherung vor Therapiebeginn eine Stanzbiopsie durchgeführt wurde. Das

Altersmedian betrug 78 Jahre. Aufgrund hoher PSA-Werte, Metastasen bei Diagnosestellung, hohem Alter des Patienten oder auf Wunsch des Patienten wurde bei dieser Patientengruppe keine radikale Prostatovesikulektomie durchgeführt, sondern mit einer primären Hormontherapie begonnen. Nur bei obstruktiven Miktionsproblemen oder Blutungen erfolgte eine palliative TURP. Der präoperative PSA-Wert lag zwischen 2 und 865 ng/ml, im Median bei 29 ng/ml. Bei 6 Patienten waren vor Therapiebeginn Metastasen bekannt. 11 Patienten entwickelten im Beobachtungszeitraum einen Progress. 12 Patienten sind bisher verstorben, 9 davon am Prostatakarzinom. 3 Patienten verstarben aufgrund anderer Ursachen, wie z.B. kardiopulmonaler Erkrankungen. Ein Teil der Patienten nahm die Tumornachsorge nicht wahr, so dass der Verlauf nicht weiter beobachtet werden konnte.

Zur besseren Charakterisierung des Patientenguts wurden anamnestische, klinische und paraklinische Angaben aus den Patientenakten verwendet.

3.2. Gewebematerial und DNA-Isolation

Bei 25 Patienten wurden nach der radikalen Prostatovesikulektomie die Operationspräparate histologisch aufgearbeitet. Es wurden Schnittpräparate von den zu untersuchenden Tumoren angefertigt und mit HE (Hämatoxylin-Eosin) angefärbt. Durch einen Referenzpathologen wurden die 25 operativ gewonnenen Präparate beurteilt und 3-4 Tumoreale je Prostata markiert. Bei 28 Patienten mit hormonell behandeltem Prostatakarzinom erfolgte die histologische Aufarbeitung des stanzbioptisch gewonnenen Gewebes. Die Biopsiezylinder der hormonablatierten Gruppe wurden ebenfalls durch den Pathologen aufgearbeitet und in Paraffin gebettet. Im Anschluss erfolgte die Kennzeichnung der Tumorzellen. Es wurden nur solche Biopsiezylinder ausgewählt, in denen ausreichend Tumorgewebe erfasst wurde.

Zur Isolation der Tumor-DNA wurden erst die Deckgläschen durch nachfolgende Arbeitsschritte entfernt.

1. Ablösen der Deckgläschen von den Objektträgern mit Xylol bei 37° Celsius über Nacht
2. Inkubation in Xylol für 10 Minuten
3. Waschen in 100% igem Ethanol für 5 min (je zwei Durchgänge)
4. Abgießen und Auffüllen von 80% igem Ethanol für 5 min (je zwei Durchgänge)
5. Abgießen und Auffüllen von 50% igem Ethanol für 5 min (je zwei Durchgänge)
6. Abgießen und Auffüllen mit destilliertem Wasser für 10 Minuten

Die Deckgläser konnten jetzt problemlos vom Objektträger gelöst werden. Das Tumorgewebe wurde mit einem Skalpell vom Objektträger entfernt und in 2ml Reaktionsgefäße gegeben. Die Isolation der Tumor-DNA erfolgte mit Hilfe eines kommerziellen Kits (Quiagen®). Zu dem gewonnenen Gewebe wurden 180 µl ATL Puffer gegeben und 20µl Proteinase zugesetzt.

1. Vortexen und für mind. 3 Stunden bei 56° C im Wasserbad inkubieren.
2. Vortexen, 200 µl AL Puffer hinzufügen und 10 Minuten in 70° Celsius Wasserbad inkubieren.
3. 200 µl Ethanol (100%) hinzufügen und zentrifugieren.
4. Mischung in DNA-Reinigungssäulen (Quiagen®) füllen und bei 8000 rpm für eine Minute zentrifugieren.
5. Säulen in neues Röhrchen stellen und 500 µl AW 1 Puffer hinzufügen und bei 8000 rpm zentrifugieren.
6. Säulen in neues Röhrchen stellen und 500 µl AW 2 Puffer hinzufügen und bei 14000rpm 3 Minuten zentrifugieren.
7. Säulen in neues Röhrchen stellen und 100 µl AE Puffer auf die Säule geben und 5 Minuten inkubieren und bei 8000 rpm 2 Minuten zentrifugieren.
8. Nochmals 100 µl AE Puffer auf die Säule geben und 5 Minuten inkubieren und bei 8000 rpm 2 Minuten zentrifugieren.

Die DNA liegt jetzt frei im Reaktionsansatz vor. Zell- und Kernmembran wurden durch Proteolyse zersetzt. Die DNA-Fällung erfolgte mit Ethanol.

Die Normal-DNA wurde von Lymphozyten aus dem Blut gesunder Probanden gewonnen.

Die DNA-Konzentration konnte nun photospektrometrisch bestimmt werden. Dazu kam ein Photospektrometer mit der Messwellenlänge von 260 und 280 nm zum Einsatz (Gene Quant II, Pharmacia).

3.3. DOP-PCR

Die Polymerasekettenreaktion (PCR) wird zur Vervielfältigung von DNA-Abschnitten unterschiedlicher Größe (etwa 100- 2000 Basenpaare) genutzt (Weber und May, 1989). Aufgrund geringer DNA-Mengen, die aus dünnen Gewebeschnitten oder Stanzzyindern gewonnen wurden, musste die gewonnene DNA amplifiziert werden. Dazu wurde die von Telenius 1992 entwickelte DOP-PCR (Degenerate-Oligonucleotid-Primed-PCR) verwendet, mit der eine schnelle Vermehrung des Genoms möglich ist (Telenius et al., 1992).

Die DNA wurde in Tubes, die zuvor zur Vermeidung einer Kontamination mit anderem DNA-Material geöffnet unter UV-Licht gestellt wurden, mit destilliertem Wasser so verdünnt, dass in 0,5 – 2 µl Lösung 0,1 bis 1 ng DNA enthalten waren.

Für den Polymerasekettenreaktionsansatz wurden entsprechend 0,5 bis 2 µl DNA-Lösung zugegeben. Die 1. PCR erfolgte in 8 Zyklen unter Verwendung des Enzyms Thermosequense im Thermocycler mit beheiztem Deckel. Hierbei wurde parallel die gewonnene Tumor-DNA und die normale DNA vervielfältigt. Bei jedem Zyklus wurde erneut Sequense bei 37° Celsius hinzugegeben, da diese nicht thermostabil ist. Dadurch steigt das Risiko einer Kontamination der Proben, so dass bei jeder DOP-PCR immer eine Negativkontrolle mitgeführt wurde. Nach diesen 8 Zyklen folgten 32 Zyklen unter Einsatz des Enzyms TaqPolymerase (Stoffel-Fragment) bei höheren Temperaturen.

Oligonukleotide mit partiell degenerierter Sequenz wurden als Primer eingesetzt. Dadurch ist ein Priming an unterschiedlichen, gleichmäßig verteilten Stellen des Genoms möglich und die DNA-Vermehrung kann simultan an verschiedenen Startpunkten beginnen. Für die Effizienz der DNA-Vermehrung ist neben der Primerkonzentration vor allem die Konzentration der TaqPolymerase von Bedeutung. Bis zu 7µg DNA pro 50µl Reaktion können unter optimalen Bedingungen erreicht werden (Harada et al., 2000; Hirose et al., 2001).

In den nachfolgenden Darstellungen erscheint eine Übersicht über benötigten Lösungen und über den zeitlichen Ablauf einer DOP-PCR.

Lösung A:

Anzahl Proben	2	3	4	5	6	12
H ₂ O in µl	10,125	13,5	16,875	20,25	23,625	47,25
Puffer in µl	1,8	2,4	3,0	3,6	4,2	8,4
DOP-Primer in µl	1,875	2,5	3,125	3,75	4,375	8,75
dNTPs in µl	1,2	1,6	2,0	2,4	2,8	5,6

Lösung B : Enzym-Mix für PCR-Zyklen mit niedriger Temperatur, pro Probenansatz sind 0,24µl für jeden der 8 Zyklen notwendig.

Anzahl Proben	2	3	4	5	6	12
Dilutionspuffer in µl	5,25	7	10,5	12,25	14	28
ThermoSequenase in µl	0,75	1,0	1,5	1,75	2,0	4,0

Lösung C: Mix für PCR-Zyklen mit hoher Temperatur ohne Enzym, pro Probenansatz sind 45µl notwendig.

Anzahl Proben	2	3	4	5	6	12
H ₂ O in µl	70,45	102,67	130,05	157,43	191,66	383,32
Puffer in µl	10	15	19	23	28	56
dNTPs in µl	8,8	13,2	16,72	20,24	24,64	49,28
DOP-Primer in µl	2,75	4,13	5,23	6,33	7,7	15,4
MgCl ₂ in µl	10	15	19	23	28	56

Lösung D: Enzym-Mix für PCR-Zyklen mit hoher Temperatur, pro Probenansatz sind 5µl notwendig.

Anzahl Proben	2	3	4	5	6	12
H ₂ O in µl	8,75	12,25	16,1	19,6	23,1	46,2
Puffer in µl	1,25	1,75	2,3	2,8	3,3	6,6
MgCl ₂ in µl	1,25	1,75	2,3	2,8	3,3	6,6
TaqPolymerase in µl	1,25	1,75	2,3	2,8	3,3	6,6

Nach der Isolation der DNA wurden die Proben (0,1-1µg DNA in 0,5-2 µl Lösung) in jeweils 5µl der Lösung A gegeben und anschließend in den Thermocycler mit beheiztem Deckel gestellt. Im Thermocycler durchliefen die nachfolgend dargestellten Schritte bei niedriger und hoher Temperatur unter Zugabe der jeweiligen Lösungen B, C und D:

	Temperatur	Zeit	
1	96 °C	5 min	
2	30 °C	2 min 20s	Zugabe pro Ansatz von 0,24µl Lösung B
3	37 °C	2 min	
4	95 °C	1 min	
5	7x Wiederholung ab Schritt 2 (\triangleq 8 Zyklen)		
6	30 °C	2 min 20s	Zugabe pro Ansatz von 45µl Lösung C
7	95 °C	1 min	
8	56 °C	2 min 20s	Zugabe pro Ansatz von 5µl Lösung D
9	72 °C	2 min	
10	56 °C	1 min	
11	94 °C	1 min	
12	72 °C	2 min	
13	31x Wiederholung ab Schritt 10 (\triangleq 32 Zyklen)		
14	72 °C	10 min	
15	4 °C	bis Probenentnahme	

3.4. Markierung der DNA

Um eine Bindung von Normal-DNA und Tumor-DNA nach der Hybridisierung an Metaphasechromosomen sichtbar machen zu können, ist eine weitere PCR nötig, die der Markierung der unterschiedlichen DNA dient. Zur Markierung sind zwei in der Literatur etablierte Methoden möglich. Bei der direkten Variante werden während der PCR fluoreszenzfarbstofftragende Nukleotide in die DNA eingebaut. Die in dieser Arbeit verwendete indirekte Methode ist die weniger störanfällige Möglichkeit. Hier werden während der PCR Oligonukleotide in die DNA eingebaut, an die Markermoleküle wie Biotin oder Digoxigenin gekoppelt sind. Die Tumor-DNA wurde mit Biotin-16dUTP und die

normale DNA mit Digoxigenin-11dUTP markiert. Erst nach der Hybridisierung werden an diese Markermoleküle fluorochromtragende Moleküle gebunden (Wilkens et al., 2002). Ein später Einbau der Farbstoffe, wie bei der angewandten indirekten Methode, ist von Vorteil, da nach der Markierung alle Arbeitsschritte in dunkler Umgebung stattfinden müssen, da sich sonst die Fluoreszenzsignale abschwächen. Zusätzlich ist bei der indirekten Methode durch eine weitere Reaktion mit fluorochromtragenden Molekülen eine Verstärkung der Signale der Farbstoffe möglich, ohne dabei die Intensitätsverhältnisse zu verfälschen.

Die nachfolgenden Darstellungen zeigen die Edukte und den zeitlichen Ablauf der DNA-Markierung.

Lösung 1:

Anzahl Proben	1	2	4	6	8	10	12
H ₂ O in µl	10,08	25,2	45,36	65,52	85,68	105,8	126
AmpliTaqpuffer in µl	2	5	9	13	17	21	25
dNTPs label in µl	2	5	9	13	17	21	25
Biotin-dUTP in µl	2	5	9	13	17	21	25
DOP-Primer in µl	1	2,5	4,5	6,5	8,5	10,5	12,5
MgCl ₂ in µl	0,8	2,0	3,6	5,2	6,8	8,4	10,0
AmpliTaq in µl	0,8	2,0	3,6	5,2	6,8	8,4	10,0

Lösung 2:

Anzahl Proben	1	2	4	6	8	10	12
H ₂ O in µl	10,08	25,2	45,36	65,52	85,68	105,8	126
AmpliTaqpuffer in µl	2	5	9	13	17	21	25
dNTPs label in µl	2	5	9	13	17	21	25
DIG-dUTP in µl	1	2,5	4,5	6,5	8,5	10,5	12,5
DOP-Primer in µl	1	2,5	4,5	6,5	8,5	10,5	12,5
MgCl ₂ in µl	0,8	2,0	3,6	5,2	6,8	8,4	10,0
AmpliTaq in µl	0,8	2,0	3,6	5,2	6,8	8,4	10,0

2µl des DOP-PCR-Produktes der Tumor-DNA wurden in 18µl der Lösung 1 und 2µl des DOP-PCR-Produktes der Normal-DNA in 18µl der Lösung 2 gegeben. Anschließend wurden folgende Schritte im Thermocycler mit beheiztem Deckel durchlaufen:

	Temperatur	Zeit
1	95 °C	3 min
2	94 °C	1 min
3	56 °C	1 min
4	72 °C	2 min
5	19 x Wiederholung ab Schritt 2 (\triangleq 20 Zyklen)	
6	72 °C	5 min
7	4 °C	bis Probenentnahme

Nach Markierung wurde die vervielfältigte und in Lösung gehaltene DNA gereinigt. Dazu wurden SpinRad-Columns® der Firma BioRad zur Entfernung von nicht eingebauten Oligonukleotiden, Primer und kleinen DNA-Fragmenten verwendet. Die o.g. SpinRad-Säulen wurden vorerst ohne Probe zentrifugiert, dabei wurde der Puffer abgefiltert. Im Anschluss wurde auf die Säulen jeweils eine DNA-Probe eines bestimmten Patienten gegeben und nochmals bei $3000n^{-1}$ für 4 Minuten zentrifugiert. Die gewonnene Lösung mit der DNA wurde anschließend zur Bestimmung der Konzentration photospektrometrisch gemessen.

3.5. Hybridisierung

Bei diesem Arbeitsschritt wird die markierte Tumor-DNA und die ebenfalls markierte Normal-DNA durch eine in situ Hybridisierung an normale Metaphasechromosomen auf einem Objektträger angelagert.

Jeweils 1 µg Tumor-DNA und 1µg normale DNA wurden unter Zugabe von Cot-1 DNA gemischt, denaturiert und für 2 - 4 Tage bei 37 °C auf Metaphasechromosomen, deren DNA ebenfalls denaturiert wurde, hybridisiert. Die Zugabe von Cot-1 DNA unterdrückt unspezifische Bindungen an hochreptitiven Sequenzen wie Zentromerregionen und p-Armen akrozentrischer Chromosomen (Jeuken et al., 2002). Diese Blockade ist nie vollständig, so dass solche Regionen mit interindividuellen Polymorphismen und sehr geringen Fluoreszenzintensitäten aus der Analyse weitestgehend ausgeschlossen werden sollten (Kirchhoff et al., 1997).

Es folgt eine detaillierte Darstellung der Arbeitsschritte der Hybridisierung:

1. 1µg Tumor-DNA, 1µg Normal-DNA, 50µl Cot-1-DNA, zweifaches Vol. Ethanol in eine Tube geben, mischen, bei -70 °C für 30 min lagern
2. Probe bei 14000rpm für 10 min zentrifugieren, Überstand verwerfen, Auffüllen mit 500 µl 70% Ethanol, bei 14000rpm zentrifugieren, Überstand verwerfen, 15-20 min lufttrocknen
3. Pellet in 7µl deionisiertem Formamid und 7µl Mastermix für 30 min bei 37 °C lösen
4. 5 min in 70 °C-warmen Wasserbad denaturieren, anschließend für 5 min in -20 °C
5. 30 min bei 37 °C vorinkubieren
6. Objektträgervorbereitung: für 2 min in 70 °C warmen 70%igem Formamid denaturieren, anschließend je 2 min in 70%, 85% und 96% Ethanol, lufttrocknen
7. Probe auf halben Objektträger geben, mit Deckgläschen abdecken und mit Fixgum verschließen
8. in feuchter Kammer bei 37 °C für 2-4 Tage hybridisieren

3.6. Detektion

Die in dieser Arbeit angewandte Methode der indirekten DNA-Markierung erfordert während dieses Arbeitsschrittes die Anbindung fluorochromtragender Moleküle. Avidin bindet an das in die Tumor-DNA eingebaute Biotin-Oligonukleotid. Daran ist der grüne Fluoreszenzfarbstoff FITC (Fluoresceinisothiocyanat) gekoppelt. Anti-Digoxigenin-Antikörper, die mit dem roten Fluoreszenzfarbstoff Rhodamin verkoppelt sind, markieren die Normal-DNA. Gleichzeitig erfolgt eine Gegenfärbung der Chromosomen mit DAPI (4,6-Diamidino-2-phenyl-indol), um die Chromosomen anhand ihres spezifischen Bandenmusters identifizieren zu können.

Es folgt die Darstellung der Arbeitsschritte der Detektion:

1. Nach der Hybridisierung und Entfernung der Deckgläschen werden die Objektträger für je 2 x 10 min in 50%-igem Formamid bei 42 °C gewaschen.
2. 1 x 10 Minuten in 2xSSC bei 42 °C unter Schütteln waschen.
3. 2 Minuten in 4xSSC/Tween bei Raumtemperatur ohne Schütteln waschen.
4. 100 µl 5% BSA/4xSSC/Tween auf Objektträger geben, mit Folie abdecken, bei 37 °C für 20 min in feuchter Kammer inkubieren.

5. 500 µl 3%BSA/4xSSC/Tween mit 1 µl Avidin-FITC und 50 µl Anti-Digoxigenin-Rhodamine in einem Tube mischen und je 100 µl der Lösung auf einen Objektträger geben, abdecken, Objektträger in feuchter Kammer bei 37 °C für 30 min inkubieren.
6. 2 x 5min in 4xSSC/Tween in dunkler Umgebung waschen.
7. 20µl DAPI – Antifade auf Objektträger geben, abdecken und in dunkler Umgebung aufbewahren.

3.7. Auswertung

Mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie (Axioplan 2® der Firma Zeiss) erfolgte nun die Suche von Metaphaseplatten und Analyse der Metaphasechromosomen. Die ausgewählten Metaphaseplatten zeichnen sich durch Vollzähligkeit, gleichmäßige Anfärbung und wenige Überlappungen der Chromosomen aus. Um quantitative und reproduzierbare Aussagen über genetische Aberrationen machen zu können und Rauschsignale zu unterdrücken, sollten mindestens 15 Metaphaseplatten pro Probe ausgewählt werden. Die Auswertung der Fluoreszenzbilder erfolgte über eine CCD- (charged coupled device-) Kamera. Durch diese wird das Fluoreszenzsignal kodiert und quantifiziert. Die Aufnahme der Fluoreszenzbilder geschieht mittels spezieller Filter für jedes Chromosom einzeln.

Mit dem Bildanalyse-Programm ISIS® (in situ imaging systems) der Firma Metasystems wurde die Auswertung der aufgenommenen Fluoreszenzbilder vorgenommen. Das Ergebnis wird in Form eines CGH-Summenkaryogramms dargestellt, welches die genetischen Veränderungen als farbkodierte Chromosomen dokumentiert. Das Computerprogramm errechnet dabei das mittlere Fluoreszenzprofil entlang eines jeden Chromosoms. Es wird das Verhältnis von rotem und grünem Fluoreszenzsignal der gebundenen Normal- bzw. Tumor-DNA ermittelt, der keinen absoluten Intensitätswert darstellt. Bei Verlusten genetischen Materials im Tumorgewebe überwiegt in der betroffenen Region das rote Fluoreszenzsignal der Normal-DNA. Kommt es am Tumor jedoch zu Zugewinnen genetischen Materials, überwiegt dementsprechend das grüne Fluoreszenzsignal der Tumor-DNA in der betroffenen Region. Existieren keine Aberrationen in der Tumor-DNA, beträgt das Verhältnis der Fluoreszenzintensitäten 1,0. Bei einer theoretisch angenommenen gleichen genetischen Veränderung aller Tumorzellen einer bestimmten Region, würde der Wert für die Fluoreszenzintensitäten bei Zugewinnen um 0,5 auf 1,5 ansteigen und bei Verlusten auf 0,5

abfallen. In der Praxis ist dies unwahrscheinlich, so dass Schwellenwerte von 1,2 und 0,8 für den Nachweis einer Aberration festgelegt wurden (du et al., 1993; Roth et al., 1996).

Nachfolgend ist der Ablauf der Chromosomenaufnahme dargestellt.

1. Aufnahme der Fluoreszenzbilder mehrerer Metaphasen
2. Korrektur des optischen Versatzes der Fluoreszenzbilder
3. Intensitätsnormierung zur Berechnung des so genannten RATIO-Bildes
4. Trennung der Chromosomen
5. Karyogrammerstellung anhand des spezifischen Bandenmusters
6. Berechnung eines CGH-Summenkaryogramms
7. Evaluierung der Ergebnisse

In den Abbildungen 5-7 wird der bildliche Ablauf der Chromosomenauswertung am Beispiel des Prostatakarzinoms mit der Nummer 14 der RPX-Gruppe dargestellt.

Abbildung 7 zeigt die durch das Computerprogramm übereinander gelegten Aufnahmen der Fluoreszenzbilder einer Metaphase. Mittels CCD-Kamera werden zuvor serielle Aufnahmen der Fluoreszenzbilder der markierten Tumor-DNA (Farbstoff FITC) und der Normal-DNA (Farbstoff Rhodamin) gemacht.

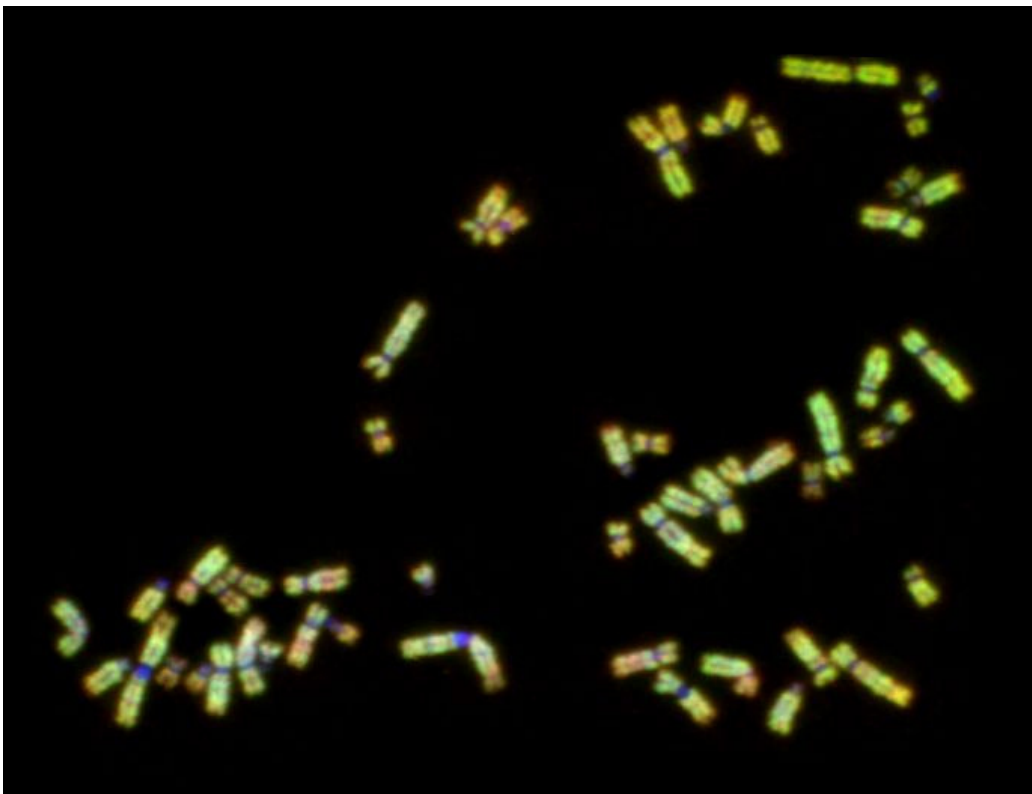


Abbildung 5: Fluoreszenzbild einer Metaphase des Prostatakarzinoms aus der prostatektomierten Gruppe Nummer 14

Nach der Trennung der Chromosomen werden diese in ein Karyogramm sortiert. In Abbildung 6 kann man im erstellten Karyogramm an einzelnen Chromosomen schon ein Überwiegen des roten (8p, 10q, 16) oder grünen (3q, 8q) Fluoreszenzsignals erkennen.

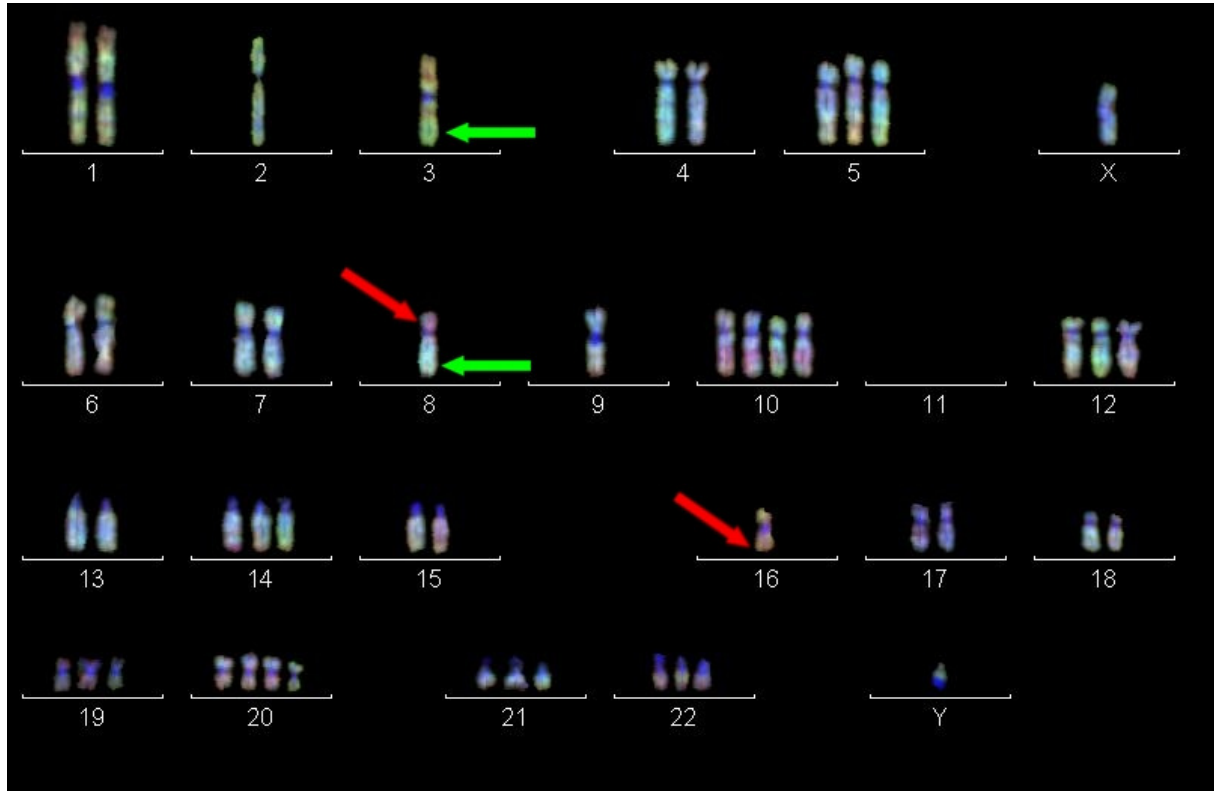


Abbildung 6: Karyogramm einer Metaphase des Prostatakarzinoms der RPX-Gruppe Nummer 14. Der grüne Pfeil markiert ein Überwiegen des grünen, die roten Pfeile ein Überwiegen des roten Fluoreszenzsignals an den Chromosomen 3, 8 und 16.

Nach Erstellung des mittleren Fluoreszenzprofils für das untersuchte Tumorareal kann man anhand der Fluoreszenzintensitätsverhältnisse Zugewinne (Überschreiten des Schwellenwertes von $1,2 \triangleq$ grüner Grenzlinie) und Verluste (Unterschreiten des Schwellenwertes von $0,8 \triangleq$ roter Grenzlinie) verifizieren. In Abbildung 7 zeigen sich Verluste auf den Chromosomenarmen 8p, 10q23qter, 16 und Zugewinne auf den Chromosomenarmen 3q24qter und 8q.

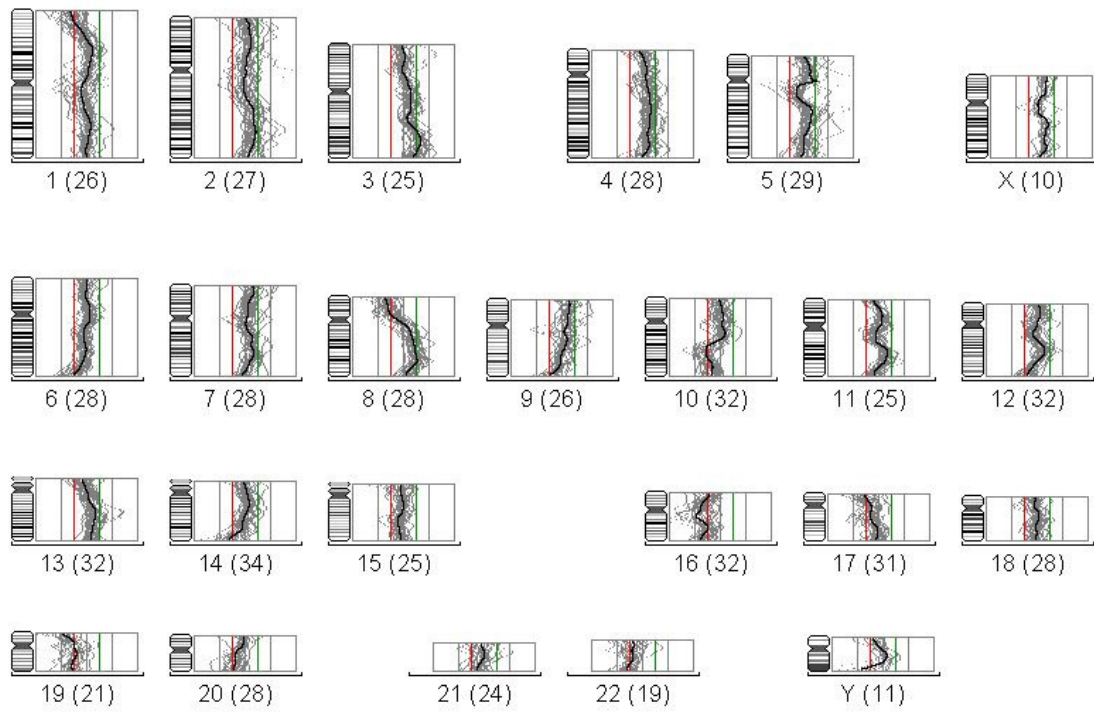


Abbildung 7: Darstellung des mittleren Fluoreszenzprofils für das Prostatakarzinom der RPX-Gruppe Nummer 14.

4. Ergebnisse

4.1. Histologie und klinischer Verlauf

Insgesamt wurden Gewebeproben von 53 Patienten mit einem Prostatakarzinom mittels CGH untersucht. Verglichen wurden zwei Patientengruppen, von denen die eine Gruppe 25 Patienten nach radikaler Prostatovesikulektomie und die andere Gruppe 28 Patienten nach Prostatastanzbiopsie einschloss. Bei den 25 radikal prostatektomierten Patienten wurden insgesamt 82 Tumorareale mit Hilfe der CGH untersucht, durchschnittlich 3 Areale pro Patient. In der Gruppe der stanzbiopsisch gesicherten Prostatakarzinome wurde meist nur ein Stanzylinder pro Patient untersucht. Zum besseren Verständnis der Ergebnisse seien hier die histologischen Befunde und Ausgangsdaten aller Patienten zusammen mit dem bis 1997 bzw. 2005 entsprechenden Verlauf in Tabelle 8 und 9 dargestellt. Der Nachbeobachtungszeitraum endete für die RPX-Gruppe im Dezember 2005 und für die TRUZ-Gruppe im Dezember 1997.

Die Patienten der RPX-Gruppe wurden präoperativ alle hinsichtlich des Lokalbefundes und ohne Anhalt auf Metastasen als kurativ behandelbar eingestuft und dementsprechend der radikalchirurgischen Operation zugeführt. Der Altersmedian lag bei 62 Jahren (50-70). Der präoperative PSA-Wert lag zwischen 2 und 325 ng/ml, im Median bei 10 ng/ml. Bei 14 Patienten war der PSA-Wert unter 10 ng/ml.

6 Tumore der radikal prostatektomierten Patienten wurden nach der T-Kategorie der UICC 1992 als pT2b-Tumore eingestuft, 1 Tumor als pT2c-Tumor, 6 als pT3a-Tumore, 8 als pT3b und 4 als pT3c-Tumore. In allen 25 Fällen handelt es sich um Adenokarzinome der Prostata. In 7 Fällen konnte operativ nur eine R1-Situation erreicht werden, von diesen Patienten hatten alle mindestens eine TNM-Klassifikation von pT3a. Bei 5 dieser Patienten kam es im Verlauf zu einem Progress und 4 Patienten entwickelten Metastasen. Insgesamt war bei 13 Patienten ein Progress zu verzeichnen, der sich in Form eines Lokalrezidives oder Metastasen bemerkbar machte. Eine zusätzliche Therapie unmittelbar postoperativ oder im weiteren Verlauf in Form einer Radiotherapie oder Hormontherapie wurde bei 15 Patienten initiiert. Ein Patient verstarb im Beobachtungszeitraum aufgrund eines Myokardinfarktes.

Insgesamt 4 Patienten haben bis heute Knochenmetastasen entwickelt. Bei 10 Patienten war keine Folgetherapie notwendig und 12 Patienten haben bisher kein nachweisbares Rezidiv. Die durchschnittliche Nachbeobachtungszeit betrug 78 Monate.

Tabelle 8: Präoperativer PSA, TNM-Klassifikation, Gleasoneinteilung, Progress im Verlauf, Auftreten von Metastasen p.o., adjuvante Therapie und Überleben der RPX-Patienten

Patient Nr.	Alter Jahre	PSA ng/ml	TNM-Stadium	Gleason	Progress/ PSA-Rezidiv	MTS nach OP	Zusätzliche Therapie	Verstorben
01	59	6	pT2bN0M0R0 G1	3	-	-	-	-
02	70	9	pT2cN0M0R0	4	-	-	-	-
03	65	111	pT3bN1M0R1	5	+	+	Hormon	-
04	50	18	pT3bN1M0R1 G2	6	-	-	Hormon	-
05	67	6	pT3aN0M0R1 G2	6	+	-	Radiatio	-
06	60	10	pT2bN0M0R0 G2	6	-	-	-	-
07	59	14	pT2bN0M0R0 G2	5	-	-	-	-
08	58	34	pT3bN0M0R1 G2	7	-	-	Radiatio	-
09	64	14	pT3bN0M0R0 G3	7	-	-	-	-
10	52	5	pT2bN0M0R0 G2	3	+	-	Radiatio	-
11	66	2	pT3aN0M0R0 G2	6	+	-	-	-
12	53	20	pT3bN0M0R0 G2	7	+	-	Radiatio	-
13	55	41	pT3cN0M0R0 G2	6	+	-	Hormon	-
14	68	19	pT3cN2M0R0 G2	7	-	-	Hormon	-
15	54	8	pT3aN1M0R1 G2	6	+	-	Radiatio	-
16	52	10	pT3aN0M0R0 G1	3	-	+	Hormon	-
17	64	9	pT3aN0M0R0 G3	6	-	-	-	-
18	58	7	pT3cN1M0R0 G3	9	+	-	-	-
19	63	6	pT2bN0M0R0 G2	6	-	-	-	-
20	66	325	pT3bN1M0R1 G4	8	+	+	Hormon	-
21	66	8	pT2bN0M0R0 G2	6	-	-	Hormon	-
22	64	6	pT3cN0M0R0 G2	7	+	-	Radiatio	-
23	59	21	pT3bN0M0R0 G2	7	+	+	Radiatio	-
24	69	10	pT3aN0M0R1 G2	5	+	-	-	-
25	62	36	pT3bN1M0R0 G2	6	-	-	Hormon	+

Die Gruppe der stanzbioptisch gesicherten Prostatakarzinome wurde ausschließlich hormonablativ, ggf. im Verlauf in Kombination mit einer Radiatio behandelt. Operative Eingriffe wurden nur aufgrund einer obstruktiven Symptomatik oder konservativ nicht beherrschbarer Blutungen durchgeführt. Die Entscheidung zur Hormontherapie war entweder durch ein zum Diagnosezeitpunkt fortgeschrittenes Tumorleiden begründet oder aufgrund des Patientenalters bzw. bestehender Begleiterkrankungen getroffen worden. Das Tumorstadium in dieser Gruppe wurde klinisch durch die rektal-digitale Untersuchung und dem transrektalen Ultraschall bestimmt. Bei Patienten, die sich zum Zeitpunkt der Diagnosestellung in einem schlechten kardiopulmonalen oder nephrologischen Zustand befanden, wurde auf eine umfassende Diagnostik zur Metastasensuche in Form eines Knochenszintigrammes, einer CT oder einer MRT verzichtet.

Der Altersmedian betrug 78 Jahre (64-86). Der PSA-Wert zum Diagnosezeitpunkt lag zwischen 2 und 865 ng/ml, im Median bei 29 ng/ml. Bei 2 Patienten war vor Therapiebeginn

kein PSA-Wert bestimmt worden. Bei 9 Patienten lag der PSA-Wert über 50 ng/ml. Nur 4 Patienten hatten prätherapeutisch einen PSA-Wert kleiner 10 ng/ml. 6 Patienten hatten bei Diagnosestellung Metastasen, 17 Patienten waren metastasenfrei und bei 5 Patienten war keine Metastasensuche durchgeführt worden. Für die Tumorareale wurde ein Grading nach Helpap erhoben, ein Grading nach Gleason erfolgte nicht. Als Kriterium für das Ansprechen auf die Hormontherapie diente ein PSA-Wertabfall in den Normbereich. Als Krankheitsprogress wurde ein erneuter PSA-Wertanstieg, das Neuauftreten von Metastasen und ein lokaler Progress gewertet. In 11 Fällen konnte ein progredienter Verlauf unter Hormontherapie beobachtet werden. Bei einer mittleren Nachbeobachtungszeit von 36 Monaten verstarben 12 Patienten, davon 7 tumorbedingt.

Tabelle 9: Alter bei Diagnosestellung, prätherapeutischer PSA, prätherapeutische Metastasen, G-Kategorie, Progress im Verlauf und Überleben der TRUZ-Patienten

Pat. Nr.	Alter	PSA in ng/ml	MTS	Grading	Progress	Verstorben
01	66	779	M+	GIIb	+	12/94,
02	81	449	M+	GII	+	
03	72	42	M0	GIIb	-	
04	83	19	Mx	GIIb	+	
05	84	29	M0	GIII	-	
06	64	5	M0	GII	-	
07	69	16	M0	GIIa	-	
08	82	-	Mx	GIII	+	
09	64	865	M+	GIII	+	
10	80	34	M0	GII	-	PCA
11	72	419	M+	GIII	+	
12	71	12	M0	GII	-	
13	77	2	M0	GIIa	-	6/95 4/97 Bronchial-CA
14	80	70	M0	GII	-	
15	69	7	M0	GIIa	-	
16	87	103	Mx	GIII	+	3/96, ANV
17	83	29	M0	GI	-	
18	82	-	M0	GIII	-	
19	73	20	M0	GIIb	+	09/94, 09/94, 01/95, unabh. 05/95, MTS 10/93
20	71	6	M+	GII	-	
21	86	17	Mx	GIII	+	
22	79	113	Mx	GIIb	-	07/95, MTS 06/95
23	78	30	M0	GII	-	
24	78	42	M0	GIIb	-	
25	79	15	M0	GII	-	
26	71	74	M+	GII	+	
27	81	19	M0	GIII	+	
28	72	11	M0	GIIb	-	

4.2. Häufigkeit spezifischer genetischer Veränderungen des Prostatakarzinoms

4.2.1. Radikale Prostatektomie-Gruppe

Chromosomale Veränderungen fanden sich in der RPX-Gruppe in 17 von 25 Fällen (68%). Aberrationen in unterschiedlicher Häufigkeit wurden auf den Chromosomen 1p, 2, 3q, 4 p und q, 5p und q, 6q und p, 7p, 8q und p, 9q und p, 10p und q, 11q und p, 12p und q, 13q, 14q, 16p und q, 17q und p, 18q und p, und auf dem Y-Chromosom gefunden. Es wurden vermehrt Aberrationen bestimmter Chromosomen beobachtet, wie Verluste auf den Chromosomen 6q, 8p, 16q, 18q und Zugewinne auf den Chromosomen 8q und 17. Insgesamt konnten 94 genetische Veränderungen detektiert werden, so dass durchschnittlich 3,76 Veränderungen auf einen Tumor fielen. In der nachfolgenden Tabelle 10 sind genetische Veränderungen ausgewählter Chromosomen dargestellt, die am häufigsten aufgefallen waren.

Tabelle 10: Anzahl der genetischen Veränderungen spezieller Chromosomen der RPX-Gruppe

Aberrationen	Häufigkeit mit Aberration in %
- 6q	35
- 8p	35
- 16q	29
- 18q	23
+ 8q	71
+ 17	6

4.2.2. Gruppe der Patienten mit Hormontherapie

Aberrationen fanden sich in dieser Gruppe in 25 von 28 Fällen (89%). Genetische Veränderungen stellten sich auf den Chromosomen 1p und q, 2q, 3p und q, 4 p und q, 5p und q, 6q und p, 7q, 8q und p, 9q und p, 10q, 11q und p, 12q, 13q, 14q, 15, 16q und p, 17, 18q und p und auf Xq dar. Insgesamt konnten 113 Aberrationen detektiert werden, das entspricht 4,03 Aberrationen pro Tumor. In dieser Gruppe fielen ebenfalls Verluste der Chromosomen 6q, 8p, 16q, 18q und Zugewinne der Chromosomen 8q und 17 auf. In der Tabelle 11 ist die Anzahl

der Patienten mit Aberrationen der am häufigsten detektierten genetischen Veränderungen einzelner Chromosomen dargestellt.

Tabelle 11: Anzahl genetischer Veränderungen spezieller Chromosomen der TRUZ-Gruppe

Aberrationen	Häufigkeit mit Aberration in %
- 6q	40
- 8p	48
-16q	24
-18q	24
+ 8q	36
+17	44

4.2.3. Vergleich der beiden Gruppen

In der RPX-Gruppe war mit 48% am häufigsten ein Zugewinn des Chromosoms 8q zu beobachten, währenddessen ein Verlust des Chromosoms 8p die häufigste Veränderung bei der hormonablatierten Gruppe darstellte. In je 11 von 28 hormonbehandelten Fällen konnte ein Verlust des Chromosoms 6q und ein Zugewinn des Chromosoms 17 nachgewiesen werden. Ein Verlust des Chromosoms 6q war ebenfalls bei der RPX-Gruppe die zweithäufigste Veränderung, jedoch wurde ein Zugewinn auf Chromosom 17 nur in einem Fall beobachtet. Zur besseren Übersicht sind in der Abbildung 8 die prozentualen Häufigkeiten der 6 am zahlreichsten detektierten speziellen Aberrationen der beiden Gruppen im Vergleich dargestellt.

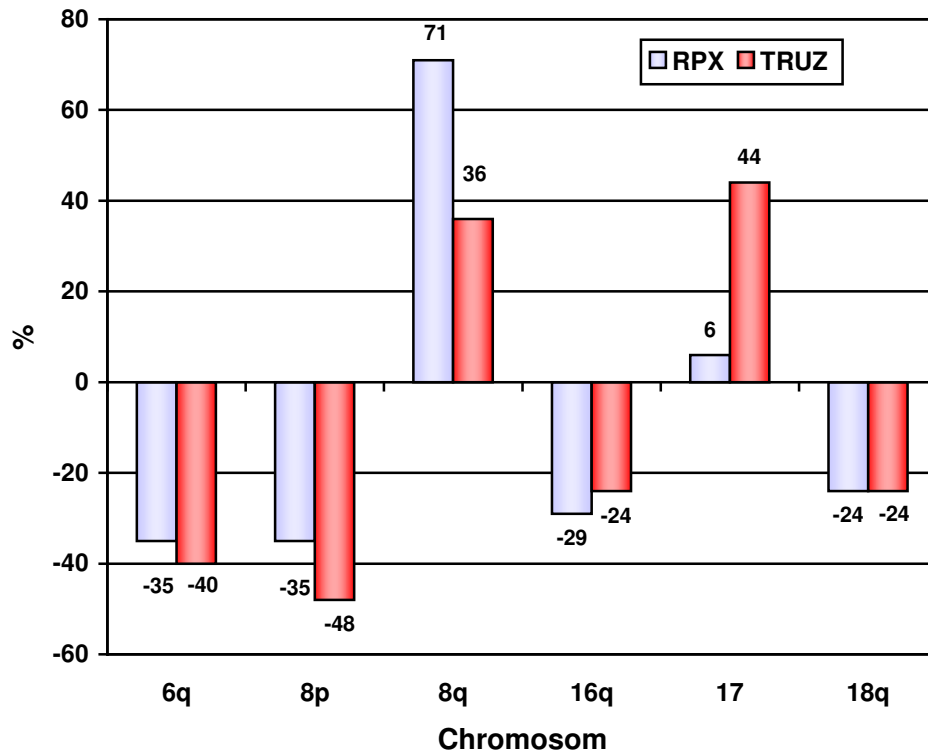


Abbildung 8: Vergleich der prozentualen Häufigkeiten der genetischen Veränderungen spezieller Chromosomen der RPX-Gruppe und der TRUZ-Gruppe, Zugewinne auf Chromosomen sind positiv und Verluste negativ dargestellt.

4.3. Beziehung der genetischen Veränderungen zur T-Kategorie und zum Grading

In beiden Gruppen ließ sich mit ansteigendem histologischem Grad eine zunehmende Anzahl genetischer Veränderungen darstellen. In den Tabellen 12 und 13 sind in Abhängigkeit des Gratings der jeweiligen Gruppe die Anzahl der Aberrationen pro Tumor dargestellt.

Tabelle 12: Anzahl der Aberrationen pro Tumor in Abhängigkeit zum Grading der TRUZ-Gruppe

Grading nach Helpap	Anzahl	Anzahl der Aberration/ Tumor
G I	1	2,0
G IIa	3	2,0
G IIb	7	2,4
G II	10	4,3
G III	7	6,4
MTS	6	7,3

Tabelle 13: Anzahl der Aberrationen pro Tumor in Abhängigkeit zum Grading der RPX-Gruppe

Grading nach Gleason	Anzahl	Anzahl der Aberration/ Tumor
3	3	2,5
4	1	1,0
5	3	3,7
6	10	5,1
7	6	3,8
8	1	4,0
9	1	6,0

Besonders deutlich ist die Zunahme der prozentualen Häufigkeit des Zugewinnes auf Chromosom 8q zu verzeichnen. In der hormonablatierten Gruppe weist keiner der Patienten mit einem GI oder GIIa-Grading eine Zugewinn auf 8q auf, aber Patienten mit einem GIII-Tumor zeigen zu 50% einen Zugewinn auf 8q und metastasierte Patienten sogar zu 83%. Die Abbildung 9 fasst das Vorkommen von genetischen Veränderungen insgesamt und die Häufigkeiten von Zugewinnen auf Chromosom 8q und Verlusten auf Chromosom 8p in Abhängigkeit der jeweiligen G-Kategorie der Stanzbiopsie-Gruppe zusammen. Für die stanzbiopsisch gewonnenen Tumorzellen wurde ein Grading nach Helpap erhoben (Helpap et al., 1985). Teilweise wurde in dieser Gruppe eine Unterscheidung zwischen GII a und b unternommen, teilweise jedoch auch nicht, so dass in der Tabelle eine Aufspaltung in G II a, b und G II vorgenommen wurde.

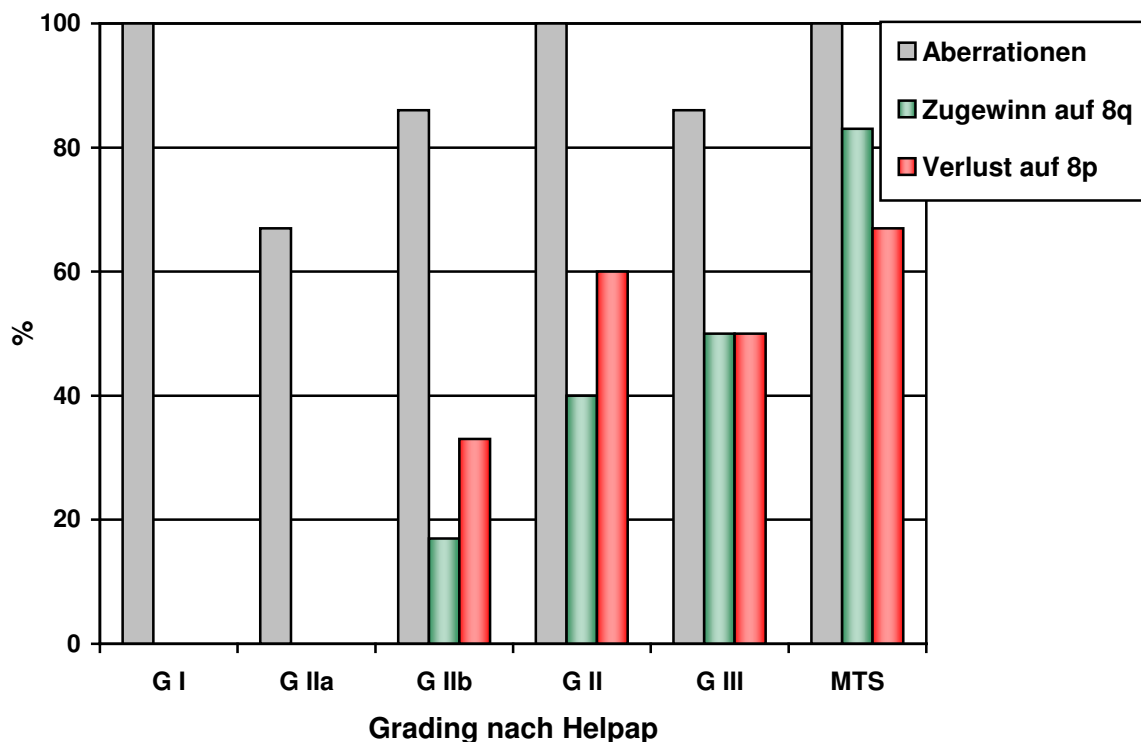


Abbildung 9: Prozentuale Häufigkeiten der Fälle mit Aberrationen insgesamt, Zugewinne auf Chromosom 8q und Verluste auf 8p in Abhängigkeit der G-Kategorie der TRUZ-Gruppe

In der Patientengruppe der radikalen Prostatektomie erfolgte ebenfalls eine Gegenüberstellung der genetischen Veränderungen in Abhängigkeit zum Grading, allerdings nach Gleason (Gleason, 1992). Auch die operierte Patientengruppe weist eine ähnliche Tendenz auf. Während für Patienten mit einem Gleason 6-Karzinom nur zu 50% Veränderungen reproduzierbar sind, werden bei Gleason 7 - Karzinomen Veränderungen mit einer Häufigkeit von 67% und bei Gleason 8 oder 9 - Karzinomen von 100% detektiert. Separat betrachtet wurden in dieser Gruppe ebenfalls Zugewinne auf Chromosom 8q und Verluste auf Chromosom 8p. Auch hier zeigte sich mit zunehmendem Gleason - Grad und damit ansteigender Malignität und Aggressivität des Tumors ein häufigeres Auftreten eines Zugewinnes auf 8q.

Aufgrund der kleinen Patientenzahl fallen häufiger Ausreißer wie z.B. im Falle der Gleason 5-Tumore mit 100% Zugewinnen auf Chromosom 8q bei nur 3 Fällen oder fehlende 8p-Verluste bei Gleason 8- und 9- Karzinomen bei jeweils nur einem Fall auf.

In der Abbildung 10 sind die Häufigkeiten der Fälle mit Aberrationen, der Zugewinne auf Chromosom 8q und der Verluste auf Chromosom 8p in Abhängigkeit des Gleason-Scores dargestellt.

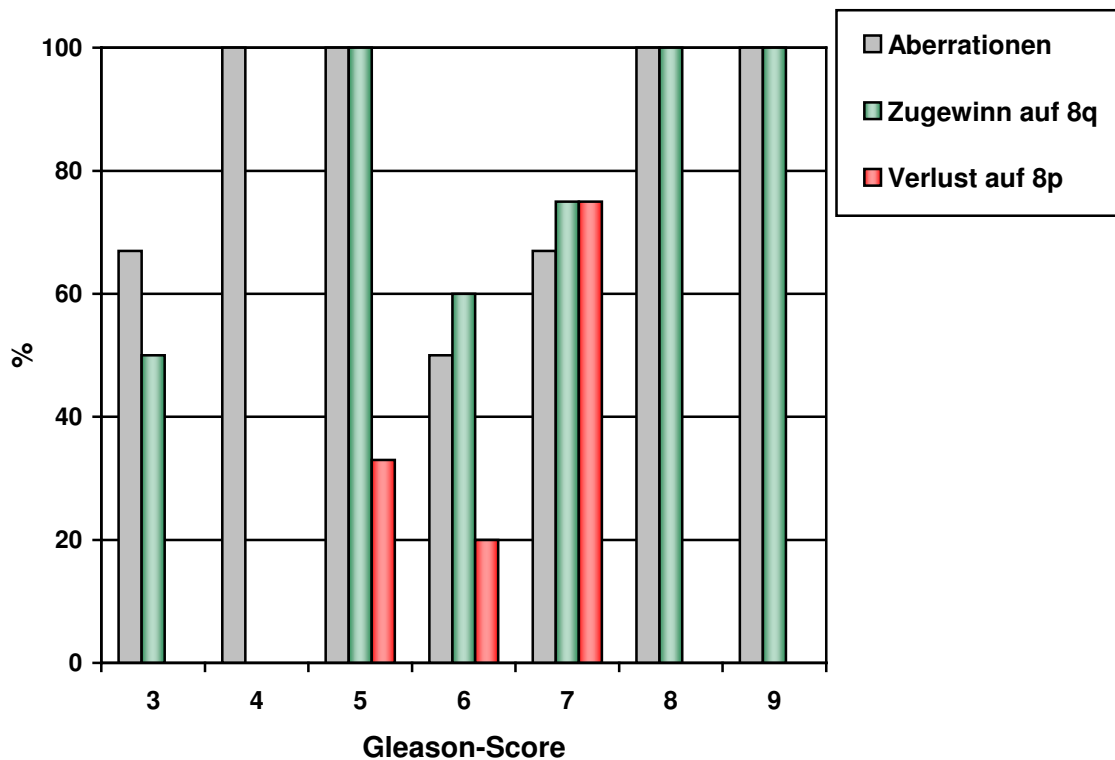


Abbildung 10: Prozentuale Häufigkeiten der Fälle mit Aberrationen insgesamt, Zugewinne auf Chromosom 8q und Verluste auf Chromosom 8p in Abhängigkeit vom Gleason-Grad der RPX-Gruppe.

In der Gruppe der prostatektomierten Gruppe erfolgte zusätzlich eine Vergleich der T-Kategorie und der detektierten Veränderungen. In den unterschiedlichen T-Kategorien sind keine großen prozentualen Unterschiede bezüglich aller Fälle mit genetischen Veränderungen (in Abb. 11 grau dargestellt) der Tumoren aufgefallen. Allerdings fanden sich Zugewinne auf 8q in der Kategorie pT3c zu 100%, während es in der T-Kategorie pT3a nur 75% und in pT3b nur 60% waren. Der Zusammenhang zwischen der T-Kategorie und dem Auftreten genetischer Veränderungen der operierten Patienten ist in Abbildung 11 dargestellt. Zugewinne auf Chromosom 8q (grün dargestellt) und Verluste auf 8p (rot dargestellt) wurden wieder separat dargestellt.

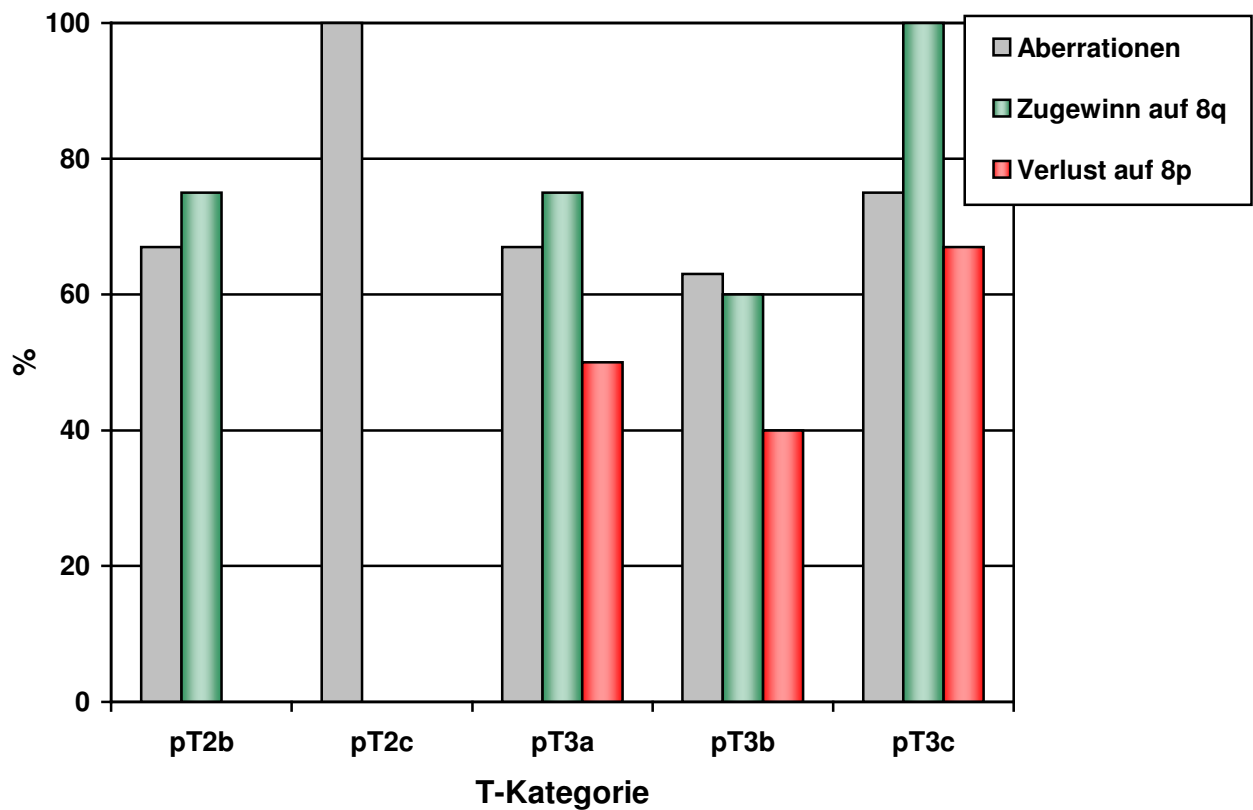


Abbildung 11: Prozentuale Häufigkeiten der Fälle mit Aberrationen insgesamt, Zugewinne auf Chromosom 8q und Verluste auf Chromosom 8p in Abhängigkeit zur T-Kategorie der RPX-Gruppe.

4.4. Zusammenhang zwischen genetischen Veränderungen und PSA-Wert

Beziehungen der durchschnittlichen Anzahl genetischer Veränderungen je Tumor zum prätherapeutisch bestimmten PSA-Wert werden für die jeweilige Gruppe in den Tabellen 14 und 15 dargelegt. Dabei wurden PSA-Bereiche kleiner 10 ng/ml, größer 10 und kleiner 20, kleiner 50 und größer 20, kleiner 100 und größer 50, und größer 100 festgelegt. Keiner der prostatektomierten Patienten fiel in die Gruppe des PSA-Bereiches $\geq 50 < 100$ ng/ml, so dass dieser in der Tabelle nicht aufgeführt wird.

In der Gruppe der hormonablatierten Patienten wurde zusätzlich in die Kategorie - ohne PSA-Wert - unterschieden, da bei einem Teil der Patienten keine PSA-Wertbestimmung vor Therapiebeginn vorgenommen worden war.

Tabelle 14: Zusammenhang der durchschnittlichen Anzahl der Aberrationen pro Tumor zum PSA-Wert der RPX-Gruppe

Präoperativer PSA-Wert [ng/ml]	Anzahl der Fälle	Anzahl der Aberration/ Tumor
< 10	11	4,1
≥ 10 < 20	7	3,8
≥20 < 50	5	5,0
≥100	2	3,0

Tabelle 15: Zusammenhang der durchschnittlichen Anzahl der Aberrationen pro Tumor zum PSA-Wert der TRUZ-Gruppe

Prätherapeutischer PSA-Wert [ng/ml]	Anzahl	Anzahl der Aberration/ Tumor
< 10	4	2,0
≥ 10 < 20	7	2,3
≥ 20 < 50	6	3,0
≥50 < 100	3	2,3
≥100	6	8,3

Um spezielle genetische Veränderungen unter Berücksichtigung des klinischen Verlaufes beurteilen zu können, haben wir die Häufigkeiten der Fälle mit Aberrationen, die Zugewinne auf Chromosom 8q und die Verluste auf Chromosom 8p in Abhängigkeit vom PSA-Wert in beiden untersuchten Gruppen betrachtet (Abb. 12). Zur besseren Vergleichbarkeit wurden PSA-Bereiche wie oben beschrieben festgelegt, die unterschiedlichen Stadien und Tumorausdehnungen in Anlehnung an die Partin-Tabellen entsprechen (Partin et al., 1997). Zur besseren Übersicht sind in Abbildung 12 die RPX-Gruppe und die TRUZ-Gruppe nebeneinander dargestellt.

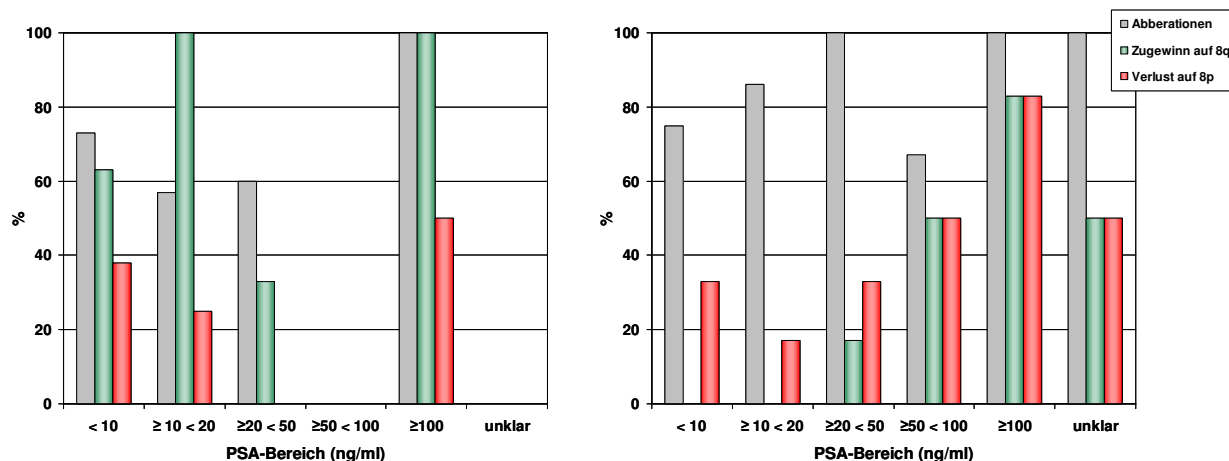


Abbildung 12: Prozentuale Häufigkeiten der Fälle mit Aberrationen insgesamt, Zugewinne auf Chromosom 8q und Verluste auf Chromosom 8p in Abhängigkeit der gewählten PSA-Bereiche; links ist die RPX-Gruppe, rechts die TRUZ-Gruppe dargestellt.

4.5. Häufigkeit spezieller Veränderungen bei Progress

Die beiden Gruppen unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Prognose und Progresswahrscheinlichkeit sehr deutlich. Trotzdem konnte man in unterschiedlicher Häufigkeit progrediente Verläufe in beiden Gruppen beobachten, so dass ein Vergleich spezieller genetischer Veränderungen unter Progress und ohne Progress vorgenommen wurde.

In Tabelle 16 sind die chromosomalen Veränderungen (dim = Verluste, enh = Zugewinne, amp = Amplifikationen), der PSA-Wert vor Therapiebeginn, das Auftreten des Progresses und der Metastasen der einzelnen Patienten der RPX-Gruppe und in Tabelle 17 die der TRUZ-Gruppe dargestellt. Im Unterschied zur Tabelle 16 ist in Tabelle 17 das Vorhandensein von Metastasen bei den hormonablatierten Patienten vor Therapiebeginn dargestellt. Diese Gruppe beinhaltete schon vor Therapiebeginn Patienten, die ein fortgeschrittenes Tumorstadium hatten. Um spezielle Veränderungen bei aggressiveren und metastasierten Tumoren herauszufiltern, wurden die Patienten in dieser Gruppe mit prätherapeutischen Metastasen in der Tabelle zusätzlich gekennzeichnet.

Tabelle 16: Chromosomale Veränderungen, Metastasen postoperativ, Rezidive in Form eines PSA-Rezidives (0,2 ng/ml), Lokalrezidives oder Metastasen, präoperativer PSA-Wert und Alter zum Diagnosezeitpunkt der einzelnen Patienten der RPX-Gruppe.

Nr	Alter	PSA ng/ml	Progress/ PSA-Rezidiv	MT S p.o.	Verlust (Chromosom)	Zugewinn (Chromosom)	Amplifikation (Chromosom)
01	59	6	-	-	7	-	6p, 8q, 12q
02	70	9	-	-	6q	-	
03	65	111	+	+	8p	8q	
04	50	18	-	-	-	-	
05	67	6	+	-	5p, 6q, 8p, 9q, 10q, 17q	5q, 8q	
06	60	10	-	-	-	-	
07	59	14	-	-	16q	3q, 4q, 5, 8q, 9p, 12	
08	58	34	-	-	-	-	
09	64	14	-	-	-	-	
10	52	5	+	-	-	-	
11	66	2	+	-	1, 2, 6q, 8p, 9q, 11q, 18q	-	
12	53	20	+	-	6q, 18q	8q, 18p	
13	55	41	+	-	-	-	
14	68	19	-	-	8p, 10q23qter, 16q	3q24qter, 8q	
15	54	8	+	-	-	-	
16	52	10	+	+	17p, y	4, 5, 8q	
17	64	9	-	-	-	-	
18	58	7	+	-	6q, 17	3q, 8q, 11	
19	63	6	-	-	4, 16q	6q, 8q, 12	
20	66	325	+	+	16q	7, 8q, 9	
21	66	8	-	-	-	4q, 8q	
22	64	6	+	-	1p, 2, 8p, 9q, 10q, 16q, 18q	8q	
23	59	21	+	+	2p, 6q, 8p, 14q	-	
24	69	10	+	-	-	6q, 8q	
25	62	36	-	-	12, 18q	3, 9, 17	

Insgesamt war es bei 13 der operierten Patienten zu einem Progress gekommen. Bei insgesamt 8 von 25 Patienten konnten keine chromosomalen Veränderungen beobachtet werden. 3 Patienten ohne detektierbare Aberrationen hatten einen progredienten Verlauf. In allen 3 Fällen zeichnete sich der Progress ausschließlich durch einen PSA-Anstieg aus. Jedoch wiesen alle 4 Patienten, bei denen im Verlauf Metastasen aufgetreten waren, chromosomale Veränderungen auf. Bei 3 von 4 metastasierten Patienten wurde ein Zugewinn des Chromosom 8q und bei 2 Patienten wurde ein Verlust des Chromosom 8p mittels CGH nachgewiesen.

Tabelle 17: Chromosomale Veränderungen, Metastasen prätherapeutisch, Rezidive in Form eines PSA-Rezidives (0,2 ng/ml), Lokalrezidives oder Metastasen, präoperativer PSA-Wert und Alter zum Diagnosezeitpunkt der einzelnen Patienten der TRUZ-Gruppe.

Pat. Nr.	Alter	PSA ng/ml	Progress/ PSA-Rezidiv	MTS prätherapeutisch	Verlust (Chromosom)	Zugewinn (Chromosom)
01	66	779	+	+	6q, Xq	8q, 10q
02	81	449	+	+	1p, 4p, 5q, 6q, 7q, 8p, 12q,13,18q	3q, 4q, 5p, 8q,11p,15p
03	83	19	+	x	-	18q
04	84	29	-	0	1q, 6q, 16q, 18q	16p, 17, 18
05	64	5	-	0	7q, 18q	17
06	69	16	-	0	6q, 18q, 20p	17
07	72	52	-	0	-	-
08	82	n.b.	+	x	8p, 16p, 18q	8q, 16q
09	64	865	+	+	2q, 6q, 8p, 13q	3q, 7q, 8q, 11q, 12q
10	80	34	-	0	8p	9q
11	72	419	+	+	2q, 4p, 6q, 8p, 9p, 11p, 13q	7q, 8q, 11q, 17
12	80	70	-	0	4q, 6q, 8p, 9q, 18q	-
13	69	7	-	0	-	-
14	71	12	-	0	6q	15,17
15	77	2	-	0	6q, 7q	-
16	87	100	+	x	8p, 9p, 11p, 14q, 16q	1p, 3p, 6p, 8q, 10q, 13, 17
17	82	n.b.	-	0	8q, 16q	7
18	73	20	+	0	16q	17
19	71	6	-	+	8p, 16q	17
20	86	17	+	x	-	-
21	79	113	-	x	6q, 8p,9p, 16, 18q	-
22	78	30	-	0	8p, 9p, 18q	8q
23	78	42	-	0	-	17
24	79	15	-	0	-	17
25	71	74	+	0	1q	8q
26	81	19	+	0	2q, 13q	11p
27	72	11	-	0	6p, 8p, 16p	17
28	83	29	-	0	10q	18p

In der Gruppe der hormonablatierten Patienten wiesen im Beobachtungszeitraum 11 von 28 Patienten einen Progress auf. Nur bei einem von diesen Patienten konnten keine Aberrationen festgestellt werden, insgesamt konnte bei 3 Patienten keine chromosomale Veränderung nachgewiesen werden. Vor Therapiebeginn waren bei 5 Patienten Metastasen bekannt, bei nur einem dieser Patienten konnte kein progredienter Verlauf im Sinne von PSA-Anstieg oder Lokalrezidiv im Beobachtungszeitraum erfasst werden. Es kam unter der kombinierten Radiohormontherapie sogar zu einer vollständigen Rückbildung der nachgewiesenen Knochenmetastasen. 4 der 5 vor Therapiebeginn metastasierten Patienten hatten Zugewinne

auf dem Chromosom 8q. Der Patient ohne nachgewiesenen Zugewinn auf 8q war der gleiche Patient, der im Beobachtungsintervall keine Progredienz des Prostatakarzinoms aufzeigte.

Bezogen auf das Zielkriterium eines Tumorprogresses bewies die Aufarbeitung eine deutlich höhere genetische Instabilität für die Tumoren der Patienten mit Progress. So wurden in der Gruppe der Patienten mit Hormontherapie im Mittel 5,3 Aberrationen je Tumor bei progredienten Patienten gegenüber 3,8 Veränderungen je Tumor bei nicht progredienten Patienten und in der Gruppe der operierten Patienten 3,7 Aberrationen bei Progress gegenüber 2,7 Veränderungen je Tumor ohne Progress nachgewiesen. Spezielle Veränderungen auf einzelnen Chromosomen traten bei den Tumoren der Patienten mit progredientem Verlauf häufiger auf.

In der Abbildung 13 sind die beiden Gruppen im Vergleich mit und ohne Progress für die einzelnen häufigsten chromosomalen Veränderungen zur besseren Übersicht dargestellt.

In beiden Gruppen ist bei Patienten mit Progress am häufigsten (in der Prostatektomiegruppe zu 80% und in der hormonablatierten Gruppe zu 70%) ein Zugewinn auf dem Chromosom 8q zu beobachten. Ein Verlust auf dem Chromosom 8p tritt in beiden Gruppen wiederholt auf. Besonders in der Gruppe der operierten Patienten stellt sich ein Verlust auf dem Chromosom 8p häufiger bei Patienten mit Progress ein (50%), als bei Patienten ohne Progress (14%).

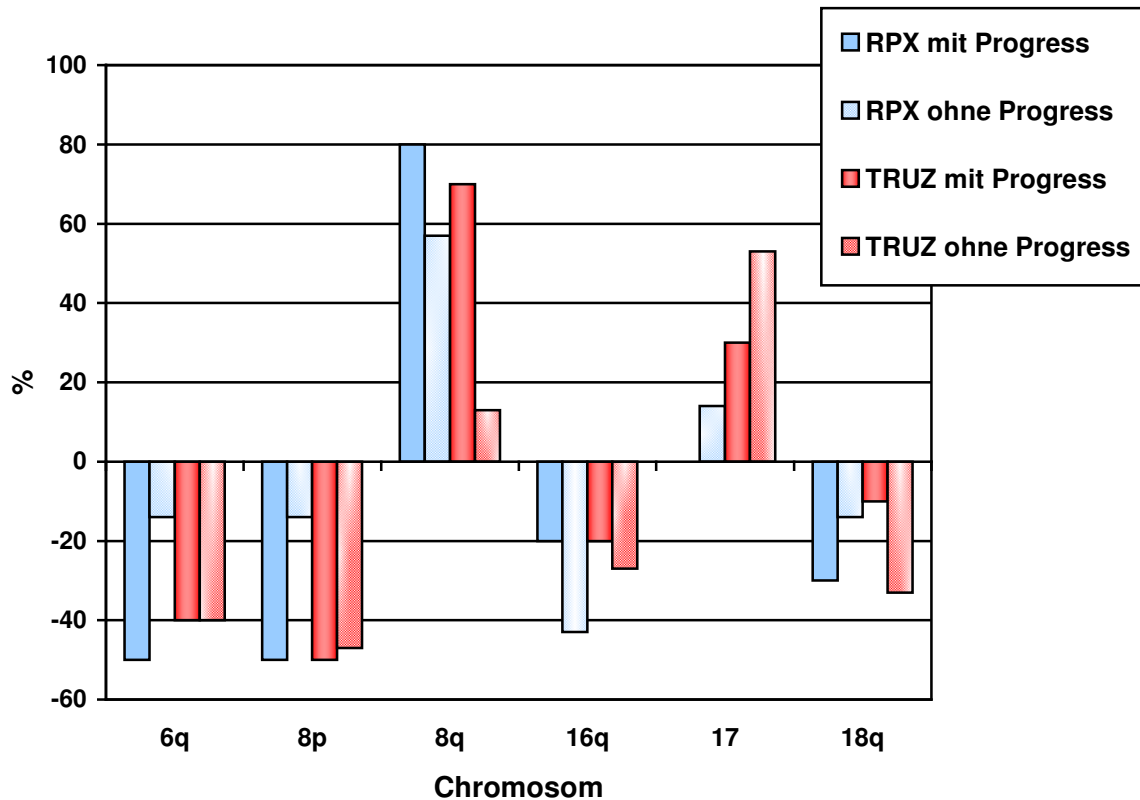


Abbildung 13: Vergleich der prozentualen Häufigkeiten spezieller genetischer Veränderungen der RPX-Gruppe (blau dargestellt) und der TRUZ-Gruppe (rot dargestellt) unter Aufspaltung der Fälle mit (volle Farbe) und ohne (schraffiert dargestellt) Progress, Häufigkeiten der Zugewinne sind im positiven Achsenbereich und Verluste im negativen Achsenbereich dargestellt.

4.6. Häufigkeit spezieller Veränderungen in unterschiedlichen Arealen innerhalb eines Tumors

Nach Aufarbeitung der Operationspräparate der radikalen Prostatektomie-Gruppe wurden durchschnittlich 3 Tumorareale markiert und separat mittels CGH untersucht, so dass auch eine Beurteilung der Aberrationen innerhalb eines Tumors in verschiedenen Arealen möglich war. Wie in Tabelle 18 dargestellt, war häufig nur in einem Areal je Fall eine genetische Veränderung für ein bestimmtes Chromosom nachzuweisen. Vermehrt veränderte Areale mit durchschnittlich 1,5 betroffenen Arealen innerhalb eines Tumors konnten für den Zugewinn auf Chromosom 8q festgestellt werden. Allein 12 der insgesamt 18 veränderten Areale bezüglich 8q finden sich bei Patienten mit einem Progress im Beobachtungszeitraum.

Tabelle 18: Häufigkeit spezieller Veränderung verschiedener Areale in einem Tumor der RPX-Gruppe

Fälle mit Veränderung	1 Areal betroffen	2 Areale betroffen	3 Areale betroffen	4 Areale betroffen	Areale/Tumor
Gesamt	9	5	2	1	1,7
-6q	6	0	0	0	1,0
-8p	6	0	0	0	1,0
-16q	4	1	0	0	1,2
-18q	4	0	0	0	1,0
+8q	8	2	2	0	1,5
+17	1	0	0	0	1,0

Dieser Vergleich war für die Gruppe der hormonablatierten Patienten nicht möglich. In nahezu allen Fällen wurde in dieser Gruppe nur ein einzelner Stanzzyylinder je Patient zur genetischen Untersuchung herangezogen, da nur Stanzzyylinder verwendet wurden, die eine ausreichende Tumormasse aufzuweisen hatten.

4.7. Verhältnisse im Bezug auf Verlust und Zugewinne

Alle vorherigen Tabellen und Ergebnisse verdeutlichen ein generell häufigeres Auftreten von Verlusten auf den verschiedenen Chromosomen. Die nachfolgenden Tabellen 19 und 20 stellen das Verhältnis Verlust und Zugewinn der Chromosomen insgesamt und in Abhängigkeit zum Progress der beiden Gruppen dar.

Tabelle 19: Beziehung des Verhältnisses Verlust/Zugewinn insgesamt und bei Patienten mit und ohne Progress der RPX-Gruppe

RPX	Verluste	Zugewinne	Verhältnis
Gesamt	42	33	1,3 : 1
Ohne Progress	12	19	1 : 1,6
Mit Progress	30	14	2,1 : 1

Tabelle 20: Beziehung des Verhältnisses Verlust/Zugewinn insgesamt und bei Patienten mit und ohne Progress der TRUZ-Gruppe

TRUZ	Verluste	Zugewinne	Verhältnis
Gesamt	68	45	1,5 : 1
Ohne Progress	34	15	2,3 : 1
Mit Progress	34	30	1,1 : 1

5. Diskussion

5.1. Beurteilung des ausgewählten Patientengutes

Die Evaluation genetischer Aberrationen im Tumorgewebe von Prostatakarzinompatienten erfolgte im Rahmen einer retrospektiven Studie. Die hormontherapierte Gruppe der Prostatakarzinompatienten wurde aus prätherapeutisch gewonnenen Prostatastanzbiopsien mittels CGH genetisch untersucht. Das untersuchte Patientengut setzte sich aus Patienten mit und ohne Progress zusammen, wobei sich erwartungsgemäß die Gruppe mit progredientem Tumorleiden stärker aus Patienten mit zum Diagnosezeitpunkt fortgeschrittenem Karzinom rekrutierte. Dies machte sich vorrangig anhand des höheren PSA-Ausgangswertes bemerkbar. Ein wichtiges Kriterium zur Durchführung der CGH ist ausreichendes Tumormaterial. Somit wurden nur die Stanzzyylinder verwendet, die mindestens 90% Tumorzellen aufwiesen. Zusätzlich ist zu beachten, dass die gewonnenen Biopsiezyylinder nicht zwangsläufig mit dem relevanten prognosebestimmendem Tumorareal übereinstimmen müssen. Damit ist die Aussagekraft zum Differenzierungsgrad in der Biopsie deutlich eingeschränkt. So sind Identitäten des präoperativ in Biopsiezyclindern einer Sextantenbiopsie der Prostata erhobenen Gleason-Einteilung mit der definitiven Beurteilung des Präparates nach radikaler Prostatektomie in nur 50% der Fälle zu erwarten (Altay et al., 2001). Aufgrund der gegebenen Voraussetzungen unterliegt die stanzbiopsisch gesicherte Gruppe der Prostatakarzinompatienten speziell hinsichtlich der Korrelation zwischen T-Kategorie, Grading und der Häufigkeit genetischer Veränderungen einer gewissen Einschränkung, stellt aber die Ergebnisse nicht grundlegend in Frage.

Um eine exaktere Eingrenzung relevanter genetischer Veränderungen zu erreichen und diese in Bezug auf das Staging und den klinischen Verlauf zu analysieren, wurde 2003 von uns eine zweite Gruppe von Prostatakarzinompatienten mittels CGH genetisch untersucht. Gleichzeitig sollte auch die Frage geklärt werden, ob sich bei Patienten mit lokal begrenzten Tumoren die gleichen Veränderungen in ähnlicher Häufigkeit zeigen und ob bei Patienten, die im Verlauf ein Lokalrezidiv oder Metastasen entwickeln, spezielle Aberrationen wiederholt auftreten.

Bislang sind beim Prostatakarzinom nur anhand des Gratings, der T-Kategorie und des PSA-Wertes prognostische Aussagen möglich. Problematisch ist bei allen bisherigen Prognoseparametern die enorme Spannbreite der prognostizierten Überlebensraten. Die progressionsfreien 10 Jahres-Überlebensraten betragen beim organbegrenzten Prostatakarzinom nach radikaler Prostatektomie zwischen 70 und 90%. Bei

organüberschreitendem Wachstum sinken die Raten auf 37-56% (Catalona & Smith, 1994; Desiredi et al., 2007; Walsh et al., 1994). Bezieht man zusätzlich den PSA-Anstieg als Progressionskriterium mit ein, so kommen 35-70% schon innerhalb von 4-5 Jahren in einen Progress (Han et al., 2003; Kinoshita et al., 2007; Kupelian et al., 1996; Wirth & Frohner, 2000). Steiner U und Miller K forderten schon 1998 weitere unabhängige Prognoseparameter aufgrund der erheblichen Unterschiede der Ergebnisse (Steiner U. & Miller K., 1998). Bei Patienten mit einem Stadium pT3c ist eine besonders schlechte Prognose absehbar. Die Angaben über eine Progressionsfreiheit nach 5 Jahren schwanken zwischen 15 und 45% (Desiredi et al., 2007; Steuber et al., 2006). Trotzdem ist es nicht möglich, auch bei Tumorstadien mit hohem Progressionsrisiko vorherzusagen, welche Patienten eine aggressive Tumorausbreitung erwartet. Um für den individuellen Patienten die Frage nach einer adjuvanten Therapie beantworten zu können, suchten wir nach speziellen genetischen Veränderungen beim Prostatakarzinom, die auf einen progredienten Verlauf hinweisen. Wünschenswert wäre, durch zytogenetische Untersuchungen Risikopatienten identifizieren zu können.

5.2. Definition spezifischer genetischer Muster des Prostatakarzinoms

Genetische Veränderungen führen zur Entstehung und Progression von Tumoren und bestimmen deren biologisches Verhalten, wie auch Invasivität und Metastasierung. Die Progression maligner Tumoren ist durch eine Akkumulation genetischer Aberrationen gekennzeichnet. Diese können zur Inaktivierung von Tumorsuppressorgenen oder zur Aktivierung von Onkogenen führen, z.B. durch Deletion bzw. Zugewinn der jeweiligen chromosomalen Loci.

Die detektierten chromosomalen Aberrationen der beiden Patientengruppen betreffen die Chromosomen 6q, 8q und p, 16q, 17 und 18q am häufigsten. Diese Ergebnisse stimmen auch mit Daten aus der aktuellen Literatur überein. In den letzten Jahren wurden gehäuft spezifische chromosomale Veränderungen beim Prostatakarzinom beschrieben (Nupponen & Visakorpi, 2000; Visakorpi, 1999) (Saramaki & Visakorpi, 2007) (Matsuda et al., 2004).

Im Vergleich zeigen die beiden untersuchten Gruppen ähnliche prozentuale Verteilungsmuster hinsichtlich der genetischen Aberrationen. Trotzdem können in den untersuchten Gruppen Abweichungen einzelner Chromosomenhäufigkeiten beobachtet werden. Die Gruppe der prostatektomierten Patienten weist mit 71% am häufigsten einen

Zugewinn des Chromosoms 8q auf, während in der Gruppe der hormonablatierten Patienten nur 36% einen Zugewinn auf Chromosom 8q haben. Am häufigsten wurde in dieser Gruppe mit 48% ein Verlust des Chromosom 8p detektiert, der in der RPX-Gruppe nur zu 35% nachweisbar war. Ein weiterer Unterschied kann im Zugewinn des Chromosom 17 festgestellt werden. Während dieser in der RPX-Gruppe nur einmal auftritt, stellt der Zugewinn in der TRUZ-Gruppe die zweithäufigste Veränderung mit 44% dar. Es stellt sich die Frage, ob das Auftreten der Aberrationen und deren unterschiedlich häufiges Vorkommen in den verschiedenen Gruppen mit einer ungleichen Prognose im Zusammenhang steht. Speziell die Veränderungen am Chromosom 8q und 8p scheinen nicht nur wiederholt bei Prostatakarzinompatienten aufzutreten, sondern nehmen offenbar eine besondere Rolle im Rahmen des weiteren klinischen Verlaufes ein. Ob das Chromosom 17 eine Schlüsselrolle für die Progredienz und Aggressivität des Prostatakarzinoms darstellt, muss ebenfalls noch geprüft werden.

In der Literatur sind zusätzlich andere häufig auftretende chromosomale Veränderungen beschrieben, wie z.B. Zugewinne auf Chromosom 7q, 11q, 12 und Verluste auf 13q (Kasahara et al., 2002; Kasahara et al., 2005; Matsuda et al., 2004; Strohmeyer et al., 2004). Diese Veränderungen konnten in unseren beiden untersuchten Gruppen nicht in entsprechenden Häufigkeiten nachgewiesen werden.

Das häufigere Vorkommen bestimmter Aberrationen lässt zwar einen Zusammenhang mit der Erkrankung vermuten, ist aber nicht beweisend für ein spezielles genetisches Muster des Prostatakarzinoms. Um ein entsprechendes Muster definieren zu können, muss anhand der vorliegenden klinischen und genetischen Daten ein Zusammenhang zwischen dem individuellen Verlauf der Erkrankung des Patienten und den häufig aufgefallenen genetischen Veränderungen gefunden werden.

5.2.1. Rolle des Zugewinns auf Chromosom 8q

Ein Zugewinn auf 8q stellt sich in unserer Arbeit als Hinweis auf eine sehr schlechte Prognose dar, da diese chromosomale Veränderung in der Gruppe der hormonablatierten Patienten wesentlich häufiger bei Patienten mit einem progredienten Verlauf vorkommt. Um diese Hypothese zu unterstützen, wurden in der Gruppe der prostatektomierten Patienten die Fälle, die im Verlauf nicht nur einen PSA-Anstieg als Zeichen für einen Progress zeigten, sondern insbesondere die Fälle, die im Verlauf Metastasen entwickelten, betrachtet. Dabei

fielen 3 der 4 metastasierten Fällen mit einem Zugewinn auf 8q auf. Auch bestätigte sich der Verdacht, dass Patienten mit schlechteren prognostischen Ausgangswerten wie z.B. einem PSA-Wert über 100 ng/ml häufiger Zugewinne auf 8q aufweisen. So konnte bei beiden Patienten der RPX-Gruppe mit PSA-Werten über 100 ng/ml ein Zugewinn von 8q festgestellt werden und wie zu erwarten, kam es im weiteren Verlauf zur Metastasierung dieser beiden Patienten.

Schon 2000 ließ ein Zugewinn auf Chromosom 8q in Verbindung mit einer raschen Progredienz ein Onkogen auf 8q im Bereich 8q21 vermuten (Kim et al., 2000). 2001 wurde eine Arbeit publiziert, die CGH-Profile von lokal begrenzten Prostatakarzinomen mit denen fortgeschrittener Tumoren verglich und als Aggressivitätsmarker angesehene Veränderungen, wie Zugewinne auf dem Chromosom 7 und 8, sowohl in fortgeschrittenen als auch in frühen Karzinomen erfasste (Alers et al., 2001). Ähnlich sind die eigenen Daten dieser Arbeit zu interpretieren. Speziell bei Patienten mit einer schnelleren Tumorausdehnung und Metastasierung ist häufiger ein Zugewinn auf 8q nachzuweisen. Spätere Arbeiten der Literatur bestätigten die Assoziation des Nachweises eines Zugewinns auf 8q mit einem rascheren progredienten Verlauf und schlechteren Überlebenschancen. Diese Tatsache lässt auf dem Chromosom 8q spezielle Progressionsmarker vermuten (van Duin et al., 2005). Diese Hypothese gab wiederum nicht nur uns den Anlass durch den Nachweis eines Zugewinnes auf 8q zusätzliche Informationen für die individuelle Prognosevorhersage noch vor therapeutischen Entscheidungen zu gewinnen. 2006 konnte Ribeiro zeigen, dass nach erfolgter Prostatastanziopsie zusätzliche prognostische Informationen durch eine CGH und Nachweis eines Zugewinnes auf 8q gewonnen werden können (Ribeiro et al., 2006).

Auch in unserer Arbeit lässt sich hinsichtlich des Nachweises eines Zugewinnes auf Chromosom 8q schlussfolgern, dass diese Information ein Hinweis für eine schlechte Prognose ist.

In der RPX-Gruppe hatten insgesamt 12 von 25 Patienten ein Zugewinn auf 8q. Bei 8 Patienten mit einem Zugewinn auf 8q konnte im Verlauf ein Progress des Prostatakarzinoms festgestellt werden, das entspricht 80% der Patienten mit Progress. Bei 3 Patienten war dies nicht nur mit einem PSA-Anstieg, sondern mit einer Metastasierung verbunden, das entspricht 25% der Patienten mit einem Zugewinn auf 8q insgesamt.

In der hormontherapierten Gruppe konnte bei 9 von 28 Patienten einen Zugewinn auf 8q detektiert werden. 70% der progredienten Patienten hatten einen Zugewinn auf 8q und bei 13% der Patienten ohne Progress konnte ebenfalls ein Zugewinn auf 8q nachgewiesen werden. 4 der 5 metastasierten Fälle zeigten einen Zugewinn auf 8q.

Wäre der Zugewinn auf 8q in dieser Gruppe ein therapiemittelscheidender diagnostischer Parameter gewesen, hätte man in der operierten Gruppe bei 5 Patienten (31%) und in der hormontherapierten Gruppe bei 4 Patienten ohne Zugewinn auf 8q ein falsch negatives Ergebnis erhalten und demzufolge keine weitere zusätzliche Therapie eingeleitet. Bei diesen Patienten war es im Verlauf ebenfalls zu einem Progress gekommen, einer entwickelte sogar Metastasen. Gleichzeitig muss in diesem Zusammenhang festgestellt werden, dass bei 4 dieser Patienten beider Gruppen auf keinem Chromosom Aberrationen detektiert werden konnten. Die Gründe für den relativ großen Anteil fehlender Aberrationen einzelner Prostatakarzinomfälle werden im folgenden Kapitel diskutiert.

Trotzdem lässt sich nicht nur eine schlechte Prognose beim Nachweis eines Zugewinnes auf 8q schlussfolgern, sondern man kann beim Ausschluss eines Zugewinnes auf 8q, besonders wenn andere genetische Veränderungen wie z.B. ein Verlust auf 6q, 16q oder 18q detektiert wurden, eine deutlich bessere Prognose postulieren.

5.2.2. Rolle des Verlustes auf Chromosom 8p

Unter Berücksichtigung der Ergebnisse dieser Arbeit und der Daten einzelner Publikationen der letzten Jahre stellte sich eine weitere wichtige Frage hinsichtlich des Verlustes auf Chromosom 8p. Inwieweit ist der Verlust auf Chromosom 8p ein Indikator für eine zu erwartende schlechte Prognose beim Prostatakarzinom?

Jenkins untersuchte 1998 Prostatakarzinome im Stadium T3 und kam zu dem Erkenntnis, dass Patienten mit Aberrationen auf 7q und 8p eine deutlich schlechtere Prognose haben als andere Prostatakarzinompatienten (Jenkins et al., 1998). In einer Pilotstudie untersuchte 2006 eine Arbeitsgruppe die Korrelation zwischen dem Verlust auf Chromosom 8p und der Prognose beim Prostatakarzinom und filterte speziell Patientenfälle, die innerhalb von 5 Jahren verstorben waren, heraus (Dvorackova & Uvirova, 2006). In einer kombinierten Studie kamen Sun et al. zu dem Ergebnis, dass sowohl in fortgeschrittenen Tumoren als auch in lokalisierten Tumoren am häufigsten ein Verlust auf Chromosom 8p zu verzeichnen ist und Zugewinne am häufigsten auf 8q vorkommen (Sun et al., 2007).

Die eigenen Ergebnisse bezüglich des Verlustes des Chromosoms 8p unterscheiden sich in den beiden untersuchten Gruppen voneinander. So fanden sich bei 12 Patienten (48%) der hormontherapierten Gruppe Verluste auf Chromosom 8p. 5 der Patienten mit Verlusten auf 8p entwickelten im Verlauf einen Progress, das entspricht 50% der Patienten mit Progress. 7

Patienten (47%) wiesen trotz des Verlustes auf 8p keinen Progress auf, so dass man in dieser Gruppe eine niedrigen Sensitivität bezüglich des Verlustes auf Chromosom 8p und dem Auftreten eines Progresses annehmen muss. Auch kann man anhand dieser Zahlen keine hohe Spezifität erwarten. Bei 6 Patienten konnte kein Verlust auf Chromosom 8p nachgewiesen werden, obwohl im Beobachtungszeitraum ein Rezidiv des Prostatakarzinoms aufgetreten war. Ein Patient mit progredientem Verlauf hatte keine nachweisbaren Aberrationen. Damit zeigt sich bei fehlendem Nachweis eines Verlustes auf Chromosom 8p für 55% der Patienten mit Progress ein falsch negatives Ergebnis.

Hinsichtlich unserer Daten kann das alleinige Vorhandensein oder Nichtvorhandensein des Verlustes auf Chromosom 8p nicht als eindeutiger therapieentscheidender prognostischer Parameter gewertet werden.

Trotzdem scheinen Patienten mit einer wesentlich schlechteren Prognose häufiger einen Verlust auf Chromosom 8p zu haben, wie sich auch in dieser Gruppe anhand der 5 Patienten mit Metastasen vor Therapiebeginn darstellen lässt. So konnte bei 4 von den 5 metastasierten Patienten ein Verlust auf Chromosom 8p festgestellt werden.

Etwas anders verhält es sich in der Gruppe der prostatektomierten Patienten. Die Häufigkeit des Verlustes auf Chromosom 8p ist zwar insgesamt mit 35% relativ gering, doch immerhin 5 der 6 Patienten (83%) mit einem 8p-Verlust entwickelten im Verlauf einen Progress. Das entspricht 42% der Patienten mit Progress insgesamt. Nur 1 Patient (17%) mit Nachweis eines 8p-Verlustes war rezidivfrei.

Insgesamt 13 Patienten entwickelten einen Progress. Bei 3 progredienten Fällen konnte keine einzige chromosomale Veränderung mittels CGH detektiert werden, wofür multiple Ursachen verantwortlich sein können. Die Möglichkeit, dass in Karzinomen keine detektierbaren Veränderungen auftreten, ist nahezu auszuschließen. Besonders progrediente Fälle oder fortgeschrittene Tumore weisen aufgrund der zunehmenden genetischen Instabilität häufig Veränderungen auf vielen verschiedenen Chromosomen auf. Ein völliges Fehlen von Aberrationen muss demzufolge eine methodische Ursache haben. Dafür kommen vielfältige Möglichkeiten in Frage. Das verwendete Tumormaterial kann in zu geringen Mengen zur Verfügung gestanden haben oder der Anteil der normalen Prostatazellen wie z.B. Stromazellen kann zu hoch gewesen sein. Diese Fälle ohne detektierbare Aberrationen wurden wiederholt mittels CGH untersucht um einen systemischen Fehler auszuschließen, jedoch ohne gewünschten Nachweis einer Aberration.

Im Gegensatz zur hormontherapierten Gruppe kann in der RPX-Gruppe noch deutlicher bewiesen werden, dass Patienten, bei denen ein Verlust auf 8p detektiert wurde, wesentlich

häufiger (42% versus 83%) einen Progress entwickeln und damit kürzere Überlebenszeiten haben als Patienten ohne Verlust auf 8p. Aus unseren Daten kann man bei einem Verlust auf Chromosom 8p schlussfolgern, dass mit einer Wahrscheinlichkeit von 50 bis 85% ein Progress im Verlauf zu erwarten ist.

Die Tatsache, dass der Verlust auf Chromosom 8p ein Indikator für eine schlechtere Prognose ist, kann auch in unserer Arbeit, besonders anhand der operierten Gruppe, festgestellt werden.

5.2.3. Rolle der kombinierten Veränderung von Chromosom 8q und 8p

Bei der Betrachtung der Aberrationen einzelner Chromosomen kann eine Korrelation zwischen dem Auftreten der Chromosomenveränderungen und der Progresshäufigkeit formuliert werden. Um ein genetisches Muster des Prostatakarzinoms formulieren zu können, wollten wir noch weitere Zusammenhänge zwischen dem Auftreten eines Progresses und dem gleichzeitigen Verlust auf Chromosom 8p und Zugewinn auf 8q prüfen. In der aktuellen Literatur werden weitere Vermutungen geäußert, die Veränderungen des Chromosoms 8 betreffen. So stellte 1999 die Arbeitsgruppe um Virgin fest, dass der Zugewinn auf 8q mit dem Verlust auf 8p assoziiert ist (Virgin et al., 1999). 2002 berichtete Tsuchiya über die klinische Bedeutung des Chromosoms 8 und stellte dar, dass nicht nur ein Verlust auf 8p mit einer schlechten Prognose beim Prostatakarzinom einhergeht, sondern dass es zu einer weiteren Prognoseverschlechterung kommt, wenn zusätzlich dieser 8p-Verlust mit einem Zugewinn auf 8q kombiniert ist (Tsuchiya et al., 2002).

Daraufhin verglichen wir unsere Daten bezüglich dieser Aussage und konnten insgesamt keine deutliche Häufigkeit dieser speziellen Kombination der Aberrationen sehen. Sowohl in der Gruppe der operierten Patienten als auch in der hormontherapierten Gruppe konnte diese Kombination in 24 Fällen nachgewiesen werden. Aber immerhin 75% der Patienten der RPX-Gruppe und 83% der stanzbiologisch gesicherten Gruppe mit nachweislich gleichzeitigen Veränderungen auf 8q und 8p hatten im Verlauf einen Progress. Wird jedoch keine Kombination mit einem Verlust auf Chromosom 8p und ein Zugewinn auf 8q nachgewiesen, ist das nicht gleichbedeutend mit einem geringeren Progressrisiko. In der RPX-Gruppe konnte bei nur 33% der progredienten Fälle ein Verlust auf 8p mit einem gleichzeitigen Zugewinn auf 8q detektiert werden und in der Gruppe der TRUZ-Patienten bei 50%. Umgekehrt betrachtet konnte in der RPX-Gruppe bei 67% der progredienten Patienten keine kombinierte

Veränderung detektiert werden. In der TRUZ-Gruppe konnte bei jedem 2. progredienten Patienten diese Kombination nicht nachgewiesen werden.

Wie schon der Verlust auf 8p oder der Zugewinn auf 8q ein Indikator für eine Prognoseverschlechterung ist, kann auch anhand der vorliegenden Daten ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten der gleichzeitigen Veränderungen auf Chromosom 8q und 8p und einem raschen progredienten Verlauf vermutet werden. Um eine sichere Korrelation nachweisen zu können, müssen größere Fallzahlen ausgewertet und genetisch untersucht werden. Zusätzlich kann ein längerer Beobachtungszeitraum Aufschluss über das Progressverhalten bei einem Nachweis von einer kombinierten genetischen Veränderung auf den Chromosomenarmen 8q und 8p geben. Die geringe Häufigkeit von 24% des kombinierten Verlustes auf 8p und Zugewinnes auf 8q in beiden Gruppen lässt vermuten, dass eine kombinierte Veränderung erst im fortgeschrittenen Prostatakarzinom auftritt. Um diese Hypothese zu beweisen, müsste man Tumoren im Stadium eines lokalisierten Prostatakarzinoms molekulargenetisch untersuchen und dann die Fälle herausfiltern, die im Verlauf ein Lokalrezidiv entwickelt haben. Dieses Lokalrezidiv müsste ebenfalls molekulargenetisch aufgearbeitet werden, um anschließend die genetischen Veränderungen jedes einzelnen Patienten vor und nach dem Auftreten eines Rezidives vergleichen zu können. Anhand unserer Daten kann momentan nur festgestellt werden, dass beim Auftreten einer Kombination eines 8p-Verlustes und 8q-Zugewinnes mit einer Wahrscheinlichkeit von 75 bis 83% ein Progress auftritt und 25 bis 60% dieser Patienten Metastasen entwickeln.

5.3. Spezielle genetische Veränderungen unter Berücksichtigung der T-Kategorie und des Gradings

In den vorangehenden Ausführungen wurde ausführlich der Zusammenhang zwischen speziellen genetischen Veränderungen und dem Progressverhalten beleuchtet, der ein wichtiger Faktor hinsichtlich der Beurteilung des Tumorverhaltens darstellen könnte, um besser den wahrscheinlichen Verlauf der Erkrankung einschätzen zu können.

Um nicht diese aufwendigen genetischen Untersuchungen wie die CGH oder FISH bei jedem Prostatakarzinompatienten durchführen zu müssen, wäre eine Vorauswahl der entsprechenden Risikopatienten nützlich.

Aus dem klinischen Alltag ist bekannt, dass Patienten mit einem höheren Tumorstadium nach durchgeführter radikaler Prostatektomie, sowie Patienten mit einem Gleason-Grading > 7 nach stanziobioptischer Sicherung eines Prostatakarzinoms ein höheres Risiko haben, ein

Rezidiv oder Metastasen zu entwickeln als Patienten mit einem niedrigerem Staging oder Grading (Lau et al., 2002; May et al., 2001).

Schon 1998 führte Jenkins eine retrospektive Analyse bei 237 Patienten mit einem T3 Stadium durch, um die prognostische Bedeutung für genetische Veränderungen beim Prostatakarzinom zu beweisen. Er konnte eine Korrelation bei Veränderungen auf Chromosom 7q zum Progress darstellen und er zeigte, dass Verluste auf 8p mit einem systemischen Progress und raschem Tod aufgrund des Prostatakarzinoms assoziiert waren (Jenkins et al., 1998). Ebenso konnte Fu et al. 2000 genetische Veränderungen auf 8q und 18q häufiger im Stadium 3b als im Stadium 2 nachweisen (Fu et al., 2000a). Eine weitere Studie von 2002 untersuchte organbegrenzte Tumoren und konnte eine signifikante Assoziation zwischen Gleason-Score und dem Auftreten von Verlusten und Zugewinnen und zusätzlich eine Korrelation zwischen chromosomalen Imbalancen und einem hohen histopathologischen Grad nachweisen (Wolter et al., 2002).

Die eigenen Daten sind in den Abbildungen 10, 11 und 12 zusammengefasst.

Ein Vergleich der beiden Gruppen für die T-Kategorie ist nicht möglich, da eine exakte Bestimmung nur in der Gruppe der prostatektomierten Patienten möglich war.

Wie in der Literatur beschrieben, kann auch anhand der eigenen Daten eine generelle Zunahme der Anzahl der Aberrationen je Tumor in höheren T-Kategorien festgestellt werden. Da die häufigsten genetischen Veränderungen in unserer Arbeit ein Zugewinn auf 8q und ein Verlust auf 8p sind, wurden diese Veränderungen hinsichtlich der Häufigkeit in den unterschiedlichen T-Kategorien analysiert.

In fast allen T-Kategorien kann zu einem Drittel keine genetische Veränderung detektiert werden. Betrachtet man alle Fälle mit genetischen Veränderungen, ist anhand unserer Ergebnisse eine Tendenz der Zunahme chromosomaler Veränderungen mit aufsteigendem Tumorstadium zu erkennen. So kann im Tumorstadium pT3c zu 100% ein Zugewinn auf 8q und ein Verlust auf 8p zu 67% detektiert werden, während es im Stadium pT3b nur zu 60% zu einem Zugewinn auf 8q und einem Verlust auf 8p kam.

Um eine Einteilung in der Gruppe der hormontherapierten Patienten zu erreichen, wurde das Grading nach Helpap herangezogen. Auch hier kann man aufsteigend von GI zu GIII eine Zunahme der Aberrationen je Tumor feststellen. Ebenfalls ist mit einem höheren Grading auch eine Zunahme der Zugewinne auf 8q und Verluste auf 8p verbunden.

Zwischen den Stadien GII und GIII kann bei beiden untersuchten Chromosomenlokalisationen kein großer Unterschied festgestellt werden. Bei dem Verlust auf

Chromosom 8p ist sogar mit 60% die Häufigkeit der GII-Tumoren höher als bei GIII-Tumoren (mit 50%). Als Ursache der höheren Häufigkeit bei GII-Tumoren kann die teilweise fehlende Unterteilung in GII a und b- Tumoren verantwortlich sein. Möglich ist aber auch, dass es bei der histologischen Untersuchungen zu einem Undergrading gekommen ist. Ein Undergrading bezeichnet die zu niedrige Einschätzung des Tumorgrades. Eine Gradeinteilung ist anhand weniger Stanzbiopsiezylinder häufig schwierig, da im stanzbiopsisch gewonnenen Gewebe nicht unbedingt ein repräsentatives Tumorareal vorhanden sein muss. Zu ähnlichen Erkenntnissen kommt man, wenn man in der Gruppe der prostatektomierten Patienten die Entwicklung der genetischen Veränderungen in Abhängigkeit vom Gleason-Score beobachtet. Auch in dieser Gruppe kann man mit gewissen Abweichungen eine Zunahme der Aberrationen von Gleason Score 3 bis 9 beobachten. Sowohl bei Gleason 8 als auch bei Gleason 9 ist zu 100% ein Zugewinn auf 8q nachgewiesen, jedoch kein Verlust auf 8p. Beide Patienten mit einem Gleason-Grad ≥ 8 bekamen im Verlauf ein Rezidiv, einer entwickelte zusätzlich Metastasen.

Diese Ergebnisse deuten wie die zuvor dargestellten Daten ebenfalls auf einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Zugewinn auf 8q, einem höheren klinischen Stadium und einem rascheren progredienten Verlauf beim Prostatakarzinom hin. Aber auch der fehlende 8p-Verlust bei diesen hohen Gleasongraden kann als Beweis gewertet werden, dass keine Kombination eines Zugewinnes auf 8q und Verlustes auf 8p nötig ist, um eine schlechte Prognose vorherzusagen. In diesen zwei Fällen reicht der Nachweis eines Zugewinnes auf 8q als Prognoseparameter aus.

5.4. Beziehung spezieller genetischer Veränderungen zum PSA-Wert

Die Bestimmung des PSA-Wertes im Rahmen der Diagnostik und als Verlaufsparemeter des Prostatakarzinoms gehört zum Routineprogramm. Der PSA-Wert ist nicht nur der wichtigste, sondern auch ein organspezifischer Tumormarker des Prostatakarzinoms. Anhand der Höhe dieses organspezifischen Antigens und der Verlaufswerte kann man entscheidende prognostische und diagnostische Schlüsse ziehen, so dass es nahe liegt, diesen Vorhersagewert als Korrelationsparameter zur besseren Beurteilung der genetischen Veränderungen beim Prostatakarzinom zu nutzen. Präoperative PSA-Werte ≥ 50 ng/ml stellen ein hohes Risiko für einen fortgeschrittenen Tumor dar. Die rezidivfreien 10-Jahresüberlebensraten liegen bei 43% (Inman et al., 2008). Schon 1994 wurde von Bluestein

der PSA-Wert als bester Vorhersagewert für das Vorhandensein von Lymphknotenmetastasen bezeichnet (Bluestein et al., 1994). Die Bestimmung des PSA-Wertes ist ein wichtiges diagnostisches Mittel zur relativen Einschätzung der Tumorausdehnung. Ein Vergleich dieses Prognosewertes mit genetischen Veränderungen könnte zusätzlich Aufschluss über häufige Aberrationen und ihre Bedeutung geben.

Literaturangaben zu dieser Problematik sind nicht zu finden. In Studien werden im Allgemeinen nur genetische Veränderungen beim Prostatakarzinom in Abhängigkeit von der TNM-Klassifikation oder dem Grading betrachtet.

Berücksichtigen muss man außerdem die Tatsache, dass ein Teil der Patienten ein PSA-negatives Prostatakarzinom haben.

Trotzdem kann die Beantwortung der Frage nach der Korrelation zwischen der Häufigkeit spezieller genetischer Veränderungen und dem PSA-Wert weiteren Aufschluss geben, inwieweit bestimmte genetische Veränderungen auf einen aggressiveren und progredienten Verlauf hinweisen.

Dazu erfolgte zu Beginn eine Unterteilung der PSA-Werte in Grenzwertbereiche, die den unterschiedlichen klinischen Stadien im Sinne von organbegrenzten, fortgeschrittenen und metastasierten Prostatakarzinomen entsprechen. Diese Intervalle der PSA-Werte wurden dann mit der allgemeinen Anzahl der Aberrationen je Tumor und den häufigsten chromosomalen Aberrationen in dieser Arbeit (Zugewinn auf 8q und Verlust auf 8p) verglichen.

Dabei konnte in der Gruppe der prostatektomierten Patienten eine Zunahme der Häufigkeiten genetischer Veränderungen bei höheren PSA-Werten festgestellt werden. Ein gleichmäßiger Anstieg des Zugewinnes auf Chromosom 8q oder Verlustes auf 8p entsprechend der steigenden PSA-Werte war nicht erkennbar. Trotzdem zeigte sich bei PSA-Werten größer 100 ng/ml deutlich, dass ein Zugewinn auf 8q oder ein Verlust auf 8p mit dem Progress des Prostatakarzinoms korreliert. In diesem Intervall konnte ein 100%iger Zugewinn auf Chromosom 8q und ein 50%iger Verlust auf Chromosom 8p detektiert werden.

Patienten mit derart hohen PSA-Werten haben ein vielfach erhöhtes Risiko ein organüberschreitendes Prostatakarzinom oder Lymph- bzw. Organmetastasen zu haben oder zu entwickeln (D'Amico et al., 1998; Inman et al., 2008; Partin et al., 1997). Der Nachweis eines Zugewinnes auf Chromosom 8q kann somit als Aggressivitätsmarker beim Prostatakarzinom angesehen werden und wird durch einen Vergleich der Häufigkeiten in unterschiedlichen PSA-Bereichen bestätigt.

Eindeutigere Ergebnisse werden in der hormonablatierten Gruppe erzielt. Hier ist ein kontinuierlicher Anstieg der prozentualen Häufigkeiten der genetischen Veränderung spezieller Chromosomen mit zunehmenden PSA-Werten zu erkennen. Ebenso nimmt die Anzahl der Aberrationen je Tumor mit steigendem PSA-Wert zu. Bei PSA-Werten größer 100 ng/ml kann zu 83% sowohl ein Zugewinn auf 8q als auch ein Verlust auf 8p detektiert werden. In dieser Gruppe kann bei PSA-Werten unter 20 ng/ml kein Zugewinn auf Chromosom 8q nachgewiesen werden.

Wie schon erwähnt, weisen die Ergebnisse in dieser Gruppe ebenfalls auf einen Zusammenhang zwischen dem Zugewinn auf Chromosom 8q und dem Verlust auf 8p hin. Besonders die hormontherapierte Gruppe sticht mit nachvollziehbaren Zusammenhängen zwischen 8q-Zugewinnen und 8p-Verlusten und der Höhe des PSA-Wertes heraus. Auffällig ist in dieser Gruppe nicht nur eine zunehmende Häufigkeit bei steigenden PSA-Werten generell, sondern vor allem ein fehlender Nachweis eines Zugewinnes auf Chromosom 8q bei PSA-Werten unter 20 ng/ml. 11 Patienten fallen in diesen Bereich. Nur 3 Patienten mit PSA-Werten unter 20 ng/ml hatten einen progredienten Verlauf und demzufolge keinen Zugewinn auf 8q. Trotz 27% aufgetretener Rezidive ohne 8q-Zugewinn, kann auch unter Betrachtung des individuellen PSA-Wertes und dem Auftreten von Rezidiven der Zugewinn auf Chromosom 8q in unserer Arbeit als Aggressivitätsmarker des Prostatakarzinoms bezeichnet werden.

5.5. Zusammenhang zwischen speziellen genetischen Veränderungen und Progress

Die Frage nach der Korrelation spezieller Aberrationen zum Progress stellt sich, nachdem bestimmte chromosomale Veränderungen, wie die oben beschriebenen Verluste der Chromosomen 6q, 8p, 16q und 18q und Zugewinne der Chromosomen 8q und 17, vermehrt und wiederholt auftreten.

Betrachtet man allein die Häufigkeiten der Chromosomen 8q und 8p, muss man davon ausgehen, dass diese eine besondere Stellung in der Karzinogenese des Prostatakarzinoms einnehmen. Schon in früheren Arbeiten wurde über die prognostische Bedeutung der genetischen Veränderung auf Chromosom 8 berichtet (Sato et al., 1999; van den et al., 1995). In weiteren Untersuchungen konnten diese Vermutungen bestätigt werden (Alers et al., 2000; Ribeiro et al., 2006; Sato et al., 2006; Steiner et al., 2002; van Dekken et al., 2003). Ähnliche

Ergebnisse konnten in unserer Arbeit mittels CGH nachgewiesen werden. Die Darstellung in Abb.14 zeigt, dass Patienten mit Progress am häufigsten einen Zugewinn auf Chromosom 8q aufweisen. Damit nimmt der Zugewinn auf Chromosom 8q sowohl bei den prostatektomierten Patienten mit 78%, als auch bei den hormontherapierten Patienten mit 70% Platz 1 in der Häufigkeit aller aufgetretenen chromosomalen Veränderungen unter Progress ein. Den zweiten Platz der Aberrationen bei Patienten mit Progression im Verlauf nimmt der Verlust auf 8p mit 56% in der RPX-Gruppe und mit 50% in der TRUZ-Gruppe ein.

Auffallend sind die differenten Häufigkeiten der Aberrationen zwischen Patienten mit und ohne Progress. So kommt in der Gruppe der RPX-Patienten ein Verlust des Chromosoms 8p bei Patienten mit Progress deutlich häufiger vor als bei Patienten ohne Progress (56% zu 13%). Währenddessen in der Vergleichsgruppe der Unterschied (50% und 47%) zwischen Patienten mit und ohne Progress verschwindend gering ist. Umgekehrt verhält es sich mit dem Zugewinn auf Chromosom 8q. Hier stellt sich in der TRUZ-Gruppe ein deutlicher Unterschied zwischen Patienten mit und ohne Progress von 70% und 13% dar, während in der RPX-Gruppe ein nur geringer Unterschied mit 78% bei progredienten Fällen und 50% bei Patienten ohne Progress zu sehen ist.

Deutlicher kann der Unterschied dargestellt werden, indem man das relative Risiko einen Progress zu entwickeln ermittelt, wenn ein Zugewinn auf Chromosom 8q nachgewiesen wurde. Zusätzlich haben wir das Chancenverhältnis für die Entwicklung eines Progresses beim Auftreten eines Zugewinnes auf 8q oder Verlustes auf 8p mit der Odds Ratio berechnet. In der hormontherapierten Gruppe sticht das Chromosom 8q mit einem relativen Risiko von 3,7 heraus. Das heißt, der Patient, der einen Zugewinn auf 8q hat, trägt ein 3,7fach erhöhtes Risiko gegenüber anderen Patienten einen Progress zu entwickeln. Dieses Ergebnis schlägt sich ebenfalls in der Odds Ratio mit 13,2 und damit einer drastischen positiven Assoziation nieder. Bei allen anderen chromosomalen Veränderungen in dieser Gruppe kann kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Vorkommen der Aberration und einer erhöhten Progresswahrscheinlichkeit aufgezeigt werden.

Im Gegensatz dazu kann man in der Gruppe der prostatektomierten Patienten mehrere Zusammenhänge formulieren. Hier stellt sich zwar der Zugewinn auf Chromosom 8q nur mit einem 1,7fach erhöhten relativen Risiko für das Auftreten eines Progresses im Vergleich zu Patienten ohne Zugewinn auf 8q dar. Die Odds Ratio beträgt 3,2. Dafür kann aber bei weiteren Chromosomen ein erhöhtes relatives Risiko für die Entwicklung eines Progresses festgestellt werden.

Das höchste relative Risiko für einen progredienten Verlauf weist ein Verlust auf Chromosom 8p mit einem 4,6fach erhöhten Risiko und einer Odds Ratio von 6,9 auf. Ursprünglich erwarteten wir einen deutlichen Zugewinn von Chromosom 8q bei progredienten Fällen in beiden Gruppen. Möglicherweise ist bei Patienten der hormontherapierten Gruppe eine bessere Vorauswahl des Tumormaterials getroffen worden. Der ausgewählte Stanzzyylinder sollte mindestens 90% Tumorzellen aufweisen. Währenddessen wurden bei der operierten Gruppe 3-4 Tumorareale gekennzeichnet, die bei der Gewinnung des Materials nicht 90% Tumorzellen beinhalten. Das Prostatagewebe besteht nicht nur aus Drüsenzellen, von denen das Prostatakarzinom in unseren Fällen ausgeht, sondern auch aus Stromazellen, die wahrscheinlich im gewonnenen Gewebe einen nicht zu vernachlässigenden Anteil ausmachen.

Eine andere Erklärung für diese unterschiedlichen Ergebnisse mit stark voneinander abweichenden relativen Risiken der einzelnen Aberrationen ist die völlig ungleiche klinische Ausgangssituation der beiden Patientengruppen. Patienten der hormontherapierten Gruppe hatten schon zu Beobachtungsbeginn häufig ein fortgeschrittenes Tumorstadium, so dass die Beobachtungszeit ausreichte um sich der endgültigen Progressrate deutlich zu nähern. Es bleibt abzuwarten, ob sich in der operierten Vergleichsgruppe noch weitere progrediente Fälle einstellen und sich der Zugewinn auf 8q bei momentan rezidivfreien Patienten als Hinweis auf einen Progress herausstellt.

Ein Zugewinn auf Chromosom 8q ist ein Progressionsmarker, wie auch in unserer Arbeit deutlich gezeigt werden konnte, wenn auch in den beiden verschiedenen Gruppen mit unterschiedlichen relativen Risiken.

Der Zugewinn auf Chromosom 17 schien nach Auswertung der hormontherapierten Gruppe eine Schlüsselrolle einzunehmen. Literaturquellen sind in Bezug auf Chromosom 17 rar. 1992 beschrieben Macoska et al. einen Verlust auf Chromosom 17p als nützlichen Progressionsmarker bei gut differenzierten Tumoren (Macoska et al., 1992). Jones wies 1994 dem Chromosom 17 eine wichtige Rolle bei der Entwicklung eines Prostatakarzinoms zu (Jones et al., 1994). In späteren Arbeiten konnte beim Prostatakarzinom auf Chromosom 17 das p53-Tumorsuppressorgen identifiziert werden. So publizierten auch Qian et al. einen Verlust auf Chromosom 17 mit Assoziation zum Progress und beschreiben dies als potentiellen Marker der Überlebenszeit im Stadium T2-3, N1-3, M0 (Qian et al., 2002). Stattdessen tritt in unserer Arbeit häufiger ein Zugewinn auf Chromosom 17 auf.

Diese Aberration konnte in der TRUZ-Gruppe als zweithäufigste Veränderung detektiert werden. Daraufhin untersuchten wir auch die operierte Patientengruppe bezüglich des

Zugewinnes auf Chromosom 17. In der operierten Gruppe trat diese Veränderung mit nur 6% deutlich seltener auf. Um weitere Informationen über die Rolle des Chromosoms 17 zu erhalten, betrachteten wir Patienten mit und ohne Progress in beiden Patientengruppen separat. In der hormontherapierten Gruppe konnte trotz des generell häufigeren Auftretens des Zugewinnes auf Chromosom 17 keine deutliche Verschiebung der Häufigkeitsverteilung zu Patienten mit Progress beobachtet werden. So konnte bei nicht progredienten Patienten diese Aberration zu 53% und bei progredienten Fällen zu 30% detektiert werden. In der operierten Gruppe trat der Zugewinn auf Chromosom 17 nur bei einem nichtprogredienten Patienten auf und keiner der progredienten Fälle konnte einen Zugewinn auf Chromosom 17 aufweisen. Nach Aufarbeitung aller Fälle kann in unserer Arbeit dem Zugewinn auf Chromosom 17 keine besondere Rolle als Progressionsmarker beim Prostatakarzinom zugeordnet werden. In der TRUZ-Gruppe kann aufgrund der Häufigkeit von einer Prostatakarzinom-markierenden oder identifizierenden genetischen Veränderung gesprochen werden.

5.6. Häufigkeit spezieller Veränderungen in verschiedenen Tumorarealen eines Tumors

Kommen die speziellen nachgewiesenen Veränderungen des Prostatakarzinoms in allen Arealen desselben Tumors vor?

Die Beantwortung dieser Frage klärt gleichzeitig die Zuverlässigkeit der Untersuchung eines einzelnen Areals und den prädiktiven Wert einer molekulargenetischen Untersuchung aus wenigen Bereichen eines Operationspräparates im klinischen Alltag. Des weiteren würde die Antwort auch Aufschluss darüber geben, inwieweit eine genetische Untersuchung begleitend zur traditionellen Diagnostik beim Prostatakarzinom sinnvoll wäre. Bei einem regelmäßigen Auftreten bestimmter genetischer Veränderungen in allen Tumorarealen wäre eine chromosomale Untersuchung zur Prognosebestimmung weitaus aussagekräftiger und zuverlässiger als bei einem sporadischen Auftreten oder unbestimmten Vorkommen in einzelnen Tumorarealen.

Aufgrund der Heterogenität des Prostatakarzinoms ist allerdings wie bei histologischen Untersuchungen und den damit verbundenen unterschiedlichen Vorkommen von verschiedenen Malignitätsgraden auch bei der genetischen Untersuchung ein differierendes

Auftreten von chromosomalen Veränderungen in verschiedenen Arealen eines Prostatakarzinoms zu erwarten.

In dieser Arbeit konnte nur in der Gruppe der prostatektomierten Patienten eine Unterscheidung verschiedener Tumorareale eines Patienten vorgenommen werden, da es nur hier möglich war durchschnittlich 3 Tumorareale je Operationspräparat zu markieren und genetisch zu untersuchen. In der Gruppe der hormontherapierten Patienten wurde oft nur ein Prostatastanzylinder mit ausreichend Tumormaterial aufgearbeitet, so dass in dieser Gruppe keine Aussage über sich wiederholende chromosomale Veränderungen bei einem Patienten getroffen werden kann.

Die Tabelle 18 zeigt bei unseren häufigsten chromosomalen Veränderungen die Anzahl der betroffenen Areale je Tumor im Durchschnitt. Zum besseren Verständnis wurde die Menge der jeweils betroffenen Areale bezüglich der spezifischen Veränderung separat dargestellt. Bei den Veränderungen der Chromosomen 6q, 8p, 18q und 17 ist mit durchschnittlich einem betroffenen Areal je Tumor kein vermehrtes Vorkommen festzustellen.

Ein mäßig erhöhtes Auftreten ist bei einem Verlust auf 16q mit 1,2 betroffenen Arealen je Tumor und einem Zugewinn auf 8q mit 1,5 betroffenen Arealen je Tumor zu verzeichnen. Obwohl nur geringfügig mehr Areale vom Zugewinn auf Chromosom 8q betroffen sind, ist doch wiederum der Zugewinn auf 8q die Veränderung, die mit der größten Anzahl betroffener Areale heraus sticht. Außerdem fallen von den insgesamt 18 Arealen mit einem Zugewinn auf 8q 12 Areale auf Patienten mit einem progredienten Verlauf. Das spricht dafür, dass ein Zugewinn generell häufiger bei Patienten mit Progredienz und vor allem in unterschiedlichen Arealen gleichzeitig auftritt.

Diese Ergebnisse unterstützen die vorangestellte Vermutung, dass genetische Veränderungen beim Prostatakarzinom ebenso der Heterogenität unterworfen sind wie die histologischen Veränderungen bei diesem Tumor. Hinsichtlich des Zugewinnes auf 8q ist ein durchschnittlich häufigeres Vorkommen in verschiedenen Tumorarealen eines Prostatakarzinoms nachvollziehbar, so dass das Auftreten von genetisch ungünstigen Parametern wie dem Zugewinn auf 8q für eine Prognosebestimmung ausreicht. Aufgrund der Heterogenität schließt ein Fehlen dieser genetischen Veränderungen eine schlechte Prognose nicht aus. Weitergehende Untersuchungen sollten hier mit der Fluoreszenz-InSitu-Hybridisierung unter Verwendung von regionspezifischen Sonden an Schnittpräparaten durchgeführt werden.

5.7. Diskussion der Relationen Verlust zu Zugewinn

Bei zytogenetischen Untersuchungen des Prostatakarzinoms präsentieren sich Verluste auf Chromosomen generell häufiger als Zugewinne. Diese Erkenntnis unserer Arbeit spiegelt sich in nahezu allen Ergebnissen der aktuellen Literatur wider (Fu et al., 2000b; Kobayashi et al., 2008). Die Ergebnisse der hormontherapierten Gruppe zeigen bei den progredienten Fällen ein gleichwertiges Verhältnis Verluste zu Zugewinnen und im Vergleich zu Patienten ohne Progress (im Verhältnis 2,3 zu 1,0) eine deutliche Verschiebung in Richtung der Zugewinne. Zusammenfassend kann in dieser Gruppe bei progredienten Patienten eine Zunahme der Zugewinne postuliert werden.

Aufgrund dieser Ergebnisse nahmen wir an, dass es entweder im Verlauf eines Prostatakarzinoms generell wegen einer hohen genetischen Instabilität bei fortgeschrittenen Tumoren zu einer steigenden Anzahl an Zugewinnen kommt oder dass sich Fälle, die einen progredienten Verlauf haben, schon zu Beginn durch vermehrte Zugewinne auszeichnen.

Daraufhin ermittelten wir in der Gruppe der operierten Patienten, die zum Diagnosezeitpunkt keine metastasierten Fälle und deutlich weniger fortgeschrittene Tumore aufwiesen, die unterschiedlichen Verhältnisse im Quotienten Verlust/Zugewinn. In dieser Gruppe konnte nicht eine Zunahme der Zugewinne bei progredienten Fällen festgestellt werden. Das Gegenteil trat ein, denn es kam sogar zu einem größeren Anteil von Zugewinnen bei Patienten ohne Progress.

Strohmeyer et al. konnten 2004 ähnliche Verhältnisse feststellen wie in unserer operierten Patientengruppe (Strohmeyer et al., 2004). So beschreibt diese Arbeitsgruppe bei Patienten mit Progress ein Überwiegen der Verluste. Zwischen Patienten mit und ohne Progress stellt diese Arbeitsgruppe bei der Häufigkeit der Zugewinne keine signifikanten Unterschiede fest. Strohmeyer et al. kommen sogar zu dem Schluss, dass vorrangig Verluste mit einem Tumorprogress korrelieren und mit einer Angiogenese assoziiert sind. Wir konnten zwar mit der RPX-Gruppe nicht zeigen, dass eine Verschiebung zugunsten der Zugewinne einen rezidivierenden Verlauf eines Prostatakarzinoms prognostiziert. Wir glauben aber, dass die Ergebnisse der hormontherapierten Gruppe aufgrund des größeren Anteiles der zu Beginn schon fortgeschritteneren Prostatakarzinome aussagefähiger sind. Eine Verlängerung des Beobachtungszeitraumes in der operierten Gruppe würde wahrscheinlich eine Verschiebung des Verhältnisses Verlust/Zugewinn aufdecken, da ein Teil der Patienten voraussichtlich noch ein Rezidiv entwickeln wird.

Demzufolge kommen wir nicht zu der gleichen Erkenntnis, wie die Arbeitsgruppe um Strohmeyer und vermuten, dass ein größerer Anteil von Zugewinnen bei einem Prostatakarzinom ein Hinweis auf einen progredienten Verlauf ist.

6. Schlussfolgerung

Die durchgeführte Untersuchung von Prostatakarzinomen konnte sowohl in der operierten als auch in der hormontherapierten Gruppe ein hohes Maß an genetischen Veränderungen ermitteln. Dabei zeigten sich in beiden Gruppen die gleichen spezifischen Veränderungen. Diese betrafen hauptsächlich die Chromosomenarme 6q, 8q und p, 16q, 17 und 18q. Diese Aberrationen kennzeichnen ein Prostatakarzinom in unserer Arbeit. Unabhängig vom Stadium oder Progress treten Verluste auf 6q, 16q und 18q bei beiden Gruppen in nahezu identischen Häufigkeiten auf. Verluste auf 8p sind mit 48% in der hormontherapierten Gruppe geringfügig häufiger detektiert worden als in der operierten Gruppe mit 35%.

Vergleicht man die Häufigkeiten unter Progress beider Gruppen zeigt sich ebenfalls eine ähnliche Häufigkeitsverteilung. Verluste auf 8p und 16q kommen mit gleichen prozentualen Häufigkeiten (50% und 20%) in beiden Gruppen unter Progress vor und Verluste auf 6q und 18q wurden zu 10 und 20% häufiger bei den operierten progredienten Patienten detektiert. Zugewinne auf Chromosomenarm 8q wurden insgesamt häufiger bei den prostatektomierten Patienten nachgewiesen. Eine Gegenüberstellung der beiden Gruppen unter Progress zeigte jedoch eine ähnliche Häufigkeitsverteilung mit 80% in der RPX-Gruppe und 70% in der TRUZ-Gruppe, so dass diese genetische Veränderung eine besondere Stellung beim Prostatakarzinom einnimmt.

Die oben genannten genetischen Veränderungen kommen zwar selten gleichzeitig bei einem einzelnen Patientenfall vor, trotzdem kann man bei Betrachtung unserer Ergebnisse einen Zusammenhang zwischen dem Auftreten dieser spezifischen Veränderung und der Entwicklungstendenz des Prostatakarzinoms erkennen. Deswegen ist anhand unserer Ergebnisse ein spezifisches genetisches Muster erkennbar. Eine Detektion der Verluste auf 6q, 16q und 18q kennzeichnen ein Prostatakarzinom in unserer Arbeit.

Zum spezifischen genetischen Muster des Prostatakarzinoms zählen auch der Verlust auf 8p und Zugewinn auf 8q. Beide Aberrationen korrelieren mit einem aggressiven Tumorverhalten.

Ein Verlust auf Chromosomenarm 8p ist bei einem Prostatakarzinom ein Indikator für eine schlechte Prognose. In unserer Arbeit konnte zwar bei einem Fehlen nicht von einem milderen klinischen Verlauf ohne erneuten PSA-Anstieg oder Lokalrezidiv ausgegangen werden, aber ein Nachweis des Verlustes auf 8p zeigte unter Berücksichtigung des klinischen

Verlaufes in beiden Gruppen ein häufigeres Auftreten von Metastasen und PSA-Rezidiven. Eine besondere Stellung nimmt der Nachweis eines Zugewinnes auf Chromosomenarm 8q ein. Die Ergebnisse anderer Forschungsarbeiten konnten bestätigt werden. Ein Zugewinn auf 8q kann auch in unserer Arbeit als Aggressivitätsmarker identifiziert werden. Patienten mit einem 8q-Zugewinn haben eine deutlich schlechtere Prognose als Patienten ohne diese genetische Veränderung, so dass wir wie andere Arbeitsgruppen auf Chromosom 8q einen Progressionsmarker vermuten. Im Gegensatz zum Verlust auf 8p lässt sich nach unseren Ergebnissen bei fehlendem Zugewinn auf 8q eine bessere zu erwartende Prognose postulieren.

Prostatakarzinomgewebe besteht nicht nur aus Karzinomzellen, sondern auch aus Stromazellen. Nach Aufarbeitung unserer Fälle kamen wir zu der Erkenntnis, dass ausschließlich Tumormaterial beim Prostatakarzinom verwendet werden sollte, welches durch Mikrosezierung gewonnen wurde. Für eine zusätzliche zytogenetische Untersuchung im Rahmen der Prostatakarzinomdiagnostik gewährleistet nur mikrosezirtes Gewebe eine hohe Ausbeute an Tumorzellen und ist damit wesentlich aussagekräftiger.

Relevante genetische Veränderungen konnten mittels CGH nach Untersuchung der operierten Patientengruppe exakter eingegrenzt werden und spezifische Veränderungen wie der Zugewinn 8q und Verlust auf 8p konnten als Progressionsmarker identifiziert werden.

Überraschenderweise stellten sich in unserer Arbeit Prostatastanzbiopsien zur Ermittlung spezifischer genetischer Veränderungen des Prostatakarzinoms als hochreproduzierbar heraus, so dass im klinischen Alltag sogar vor einem radikalchirurgischen Eingriff eine spezifische prognostische Vorhersage möglich ist.

Eine zytogenetische Untersuchung mittels CGH oder FISH sollte nach unserer Erkenntnis im Rahmen der Prostatakarzinomdiagnostik bei unklaren Fällen, beispielsweise bei Karzinomen mit Gleason 7 oder PSA-Werten ≥ 20 ng/ml, angewandt werden, um Risikopatienten herauszufiltern und gegebenenfalls eine zusätzliche Therapie einzuleiten.

Eine weitere Spezifizierung der CGH oder FISH sollte durch Mikrosektion von schlecht differenzierten Arealen (Gleason 4-Areale) möglich sein.

V. Literaturverzeichnis

Alers JC, Krijtenburg PJ, Vis AN, Hoedemaeker RF, Wildhagen MF, Hop WC, Der Kwast TT, Schroder FH, Tanke HJ, van Dekken H. 2001. Molecular cytogenetic analysis of prostatic adenocarcinomas from screening studies : early cancers may contain aggressive genetic features. *Am J Pathol* 158:399-406.

Alers JC, Rochat J, Krijtenburg PJ, Hop WC, Kranse R, Rosenberg C, Tanke HJ, Schroder FH, van Dekken H. 2000. Identification of genetic markers for prostatic cancer progression. *Lab Invest* 80:931-942.

Altay B, Kefi A, Nazli O, Killi R, Semerci B, Akar I. 2001. Comparison of Gleason scores from sextant prostate biopsies and radical prostatectomy specimens. *Urol Int* 67:14-18.

Aprikian AG, Sarkis AS, Fair WR, Zhang ZF, Fuks Z, Cordon-Cardo C. 1994. Immunohistochemical determination of p53 protein nuclear accumulation in prostatic adenocarcinoma. *J Urol* 151:1276-1280.

Baade PD, Coory MD, Aitken JF. 2004. International trends in prostate-cancer mortality: the decrease is continuing and spreading. *Cancer Causes Control* 15:237-241.

Bauer KH. Das Krebsproblem. 1963. Springer, Berlin.

Bentz M, Plesch A, Stilgenbauer S, Dohner H, Lichter P. 1998. Minimal sizes of deletions detected by comparative genomic hybridization. *Genes Chromosomes Cancer* 21:172-175.

Berg W.und Schubert J. 15 Jahre PSA in Deutschland. 14, 2. 2003. Ärzteblatt Thüringen.

Berry R, Schroeder JJ, French AJ, McDonnell SK, Peterson BJ, Cunningham JM, Thibodeau SN, Schaid DJ. 2000. Evidence for a prostate cancer-susceptibility locus on chromosome 20. *Am J Hum Genet* 67:82-91.

Bluestein DL, Bostwick DG, Bergstralh EJ, Oesterling JE. 1994. Eliminating the need for bilateral pelvic lymphadenectomy in select patients with prostate cancer. *J Urol* 151:1315-1320.

Bookstein R, MacGrogan D, Hilsenbeck SG, Sharkey F, Allred DC. 1993. p53 is mutated in a subset of advanced-stage prostate cancers. *Cancer Res* 53:3369-3373.

Bookstein R, Rio P, Madreperla SA, Hong F, Allred C, Grizzle WE, Lee WH. 1990. Promoter deletion and loss of retinoblastoma gene expression in human prostate carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87:7762-7766.

Bott SR, Arya M, Shergill IS, Williamson M. 2005. Molecular changes in prostatic cancer. *Surg Oncol* 14:91-104.

Brawer MK. 2005. Prostatic intraepithelial neoplasia: an overview. *Rev Urol* 7 Suppl 3:S11-S18.

Brawer MK, Bigler SA, Sohlberg OE, Nagle RB, Lange PH. 1991. Significance of prostatic intraepithelial neoplasia on prostate needle biopsy. *Urology* 38:103-107.

Brooks JD, Bova GS, Isaacs WB. 1995. Allelic loss of the retinoblastoma gene in primary human prostatic adenocarcinomas. *Prostate* 26:35-39.

Cannon L et al. Genetic epidemiology of prostate cancer in the Utah Mormon genealogy. 1, 47-69. 1982. *Cancer Surv.*

Cantor SB, Spann SJ, Volk RJ, Cardenas MP, Warren MM. 1995. Prostate cancer screening: a decision analysis. *J Fam Pract* 41:33-41.

Carpten J, Nupponen N, Isaacs S, Sood R, Robbins C, Xu J, Faruque M, Moses T, Ewing C, Gillanders E, Hu P, Bujnovszky P, Makalowska I, Baffoe-Bonnie A, Faith D, Smith J, Stephan D, Wiley K, Brownstein M, Gildea D, Kelly B, Jenkins R, Hostetter G, Matikainen M, Schleutker J, Klinger K, Connors T, Xiang Y, Wang Z, De Marzo A, Papadopoulos N, Kallioniemi OP, Burk R, Meyers D, Gronberg H, Meltzer P, Silverman R, Bailey-Wilson J, Walsh P, Isaacs W, Trent J. 2002. Germline mutations in the ribonuclease L gene in families showing linkage with HPC1. *Nat Genet* 30:181-184.

Carter BS, Beaty TH, Steinberg GD, Childs B, Walsh PC. 1992. Mendelian inheritance of familial prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89:3367-3371.

Carter BS, Bova GS, Beaty TH, Steinberg GD, Childs B, Isaacs WB, Walsh PC. 1993. Hereditary prostate cancer: epidemiologic and clinical features. *J Urol* 150:797-802.

Catalona WJ, Smith DS. 1994. 5-year tumor recurrence rates after anatomical radical retropubic prostatectomy for prostate cancer. *J Urol* 152:1837-1842.

Cher ML, Bova GS, Moore DH, Small EJ, Carroll PR, Pin SS, Epstein JI, Isaacs WB, Jensen RH. 1996. Genetic alterations in untreated metastases and androgen-independent prostate cancer detected by comparative genomic hybridization and allelotyping. *Cancer Res* 56:3091-3102.

Colli JL, Amling CL. 2008. Exploring causes for declining prostate cancer mortality rates in the United States. *Urol Oncol*.

D'Amico AV, Whittington R, Malkowicz SB, Schultz D, Blank K, Broderick GA, Tomaszewski JE, Renshaw AA, Kaplan I, Beard CJ, Wein A. 1998. Biochemical outcome after radical prostatectomy, external beam radiation therapy, or interstitial radiation therapy for clinically localized prostate cancer. *JAMA* 280:969-974.

Desireddi NV, Roehl KA, Loeb S, Yu X, Griffin CR, Kundu SK, Han M, Catalona WJ. 2007. Improved stage and grade-specific progression-free survival rates after radical prostatectomy in the PSA era. *Urology* 70:950-955.

Dong JT. 2001. Chromosomal deletions and tumor suppressor genes in prostate cancer. *Cancer Metastasis Rev* 20:173-193.

du MS, Speicher MR, Joos S, Schrock E, Popp S, Dohner H, Kovacs G, Robert-Nicoud M, Lichter P, Cremer T. 1993. Detection of complete and partial chromosome gains and losses by comparative genomic in situ hybridization. *Hum Genet* 90:590-610.

Dvorackova J, Uvirova M. 2006. [The molecular genetic assessment of prognostic factors in carcinoma of the prostate: a pilot study]. *Cesk Patol* 42:130-132.

- Eagle LR, Yin X, Brothman AR, Williams BJ, Atkin NB, Prochownik EV. 1995. Mutation of the MXI1 gene in prostate cancer. *Nat Genet* 9:249-255.
- El Gedaily A, Bubendorf L, Willi N, Fu W, Richter J, Moch H, Mihatsch MJ, Sauter G, Gasser TC. 2001. Discovery of new DNA amplification loci in prostate cancer by comparative genomic hybridization. *Prostate* 46:184-190.
- Epstein JI, Allsbrook WC, Jr., Amin MB, Egevad LL. 2005. The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma. *Am J Surg Pathol* 29:1228-1242.
- Fowler JE, Jr., Pandey P, Bigler SA, Yee DT, Kolski JM. 1997. Trends in diagnosis of stage T1a-b prostate cancer. *J Urol* 158:1849-1852.
- Fu W, Bubendorf L, Willi N, Moch H, Mihatsch MJ, Sauter G, Gasser TC. 2000a. Genetic changes in clinically organ-confined prostate cancer by comparative genomic hybridization. *Urology* 56:880-885.
- Fu W, Bubendorf L, Willi N, Moch H, Mihatsch MJ, Sauter G, Gasser TC. 2000b. Genetic changes in clinically organ-confined prostate cancer by comparative genomic hybridization. *Urology* 56:880-885.
- Gillanders EM, Xu J, Chang BL, Lange EM, Wiklund F, Bailey-Wilson JE, Baffoe-Bonnie A, Jones M, Gildea D, Riedesel E, Albertus J, Isaacs SD, Wiley KE, Mohai CE, Matikainen MP, Tammela TL, Zheng SL, Brown WM, Rokman A, Carpten JD, Meyers DA, Walsh PC, Schleutker J, Gronberg H, Cooney KA, Isaacs WB, Trent JM. 2004. Combined genome-wide scan for prostate cancer susceptibility genes. *J Natl Cancer Inst* 96:1240-1247.
- Gleason DF. 1966. Classification of prostatic carcinomas. *Cancer Chemother Rep* 50:125-128.
- Gleason DF. 1992. Histologic grading of prostate cancer: a perspective. *Hum Pathol* 23:273-279.
- Gronberg H, Isaacs SD, Smith JR, Carpten JD, Bova GS, Freije D, Xu J, Meyers DA, Collins FS, Trent JM, Walsh PC, Isaacs WB. 1997a. Characteristics of prostate cancer in families potentially linked to the hereditary prostate cancer 1 (HPC1) locus. *JAMA* 278:1251-1255.
- Gronberg H, Xu J, Smith JR, Carpten JD, Isaacs SD, Freije D, Bova GS, Danber JE, Bergh A, Walsh PC, Collins FS, Trent JM, Meyers DA, Isaacs WB. 1997b. Early age at diagnosis in families providing evidence of linkage to the hereditary prostate cancer locus (HPC1) on chromosome 1. *Cancer Res* 57:4707-4709.
- Gronwald J, Storkel S, Holtgreve-Grez H, Hadaczek P, Brinkschmidt C, Jauch A, Lubinski J, Cremer T. 1997. Comparison of DNA gains and losses in primary renal clear cell carcinomas and metastatic sites: importance of 1q and 3p copy number changes in metastatic events. *Cancer Res* 57:481-487.
- Haapala K, Kuukasjarvi T, Hyytinen E, Rantala I, Helin HJ, Koivisto PA. 2007. Androgen receptor amplification is associated with increased cell proliferation in prostate cancer. *Hum Pathol* 38:474-478.

Han M, Partin AW, Zahurak M, Piantadosi S, Epstein JI, Walsh PC. 2003. Biochemical (prostate specific antigen) recurrence probability following radical prostatectomy for clinically localized prostate cancer. *J Urol* 169:517-523.

Harada T, Shiraishi K, Kusano N, Umayahara K, Kondoh S, Okita K, Sasaki K. 2000. Evaluation of the reliability of chromosomal imbalances detected by combined use of universal DNA amplification and comparative genomic hybridization. *Jpn J Cancer Res* 91:1119-1125.

He WW, Sciavolino PJ, Wing J, Augustus M, Hudson P, Meissner PS, Curtis RT, Shell BK, Bostwick DG, Tindall DJ, Gelmann EP, Abate-Shen C, Carter KC. 1997. A novel human prostate-specific, androgen-regulated homeobox gene (NKX3.1) that maps to 8p21, a region frequently deleted in prostate cancer. *Genomics* 43:69-77.

Helpap B. 42, 121-127. 2002. *Urologe*.

Helpap B. 46, 59-62. 2007. *Urologe*.

Helpap B, Bocking A, Dhom G, Faul P, Kastendieck H, Leistenschneider W, Muller HA. 1985. [Classification, histologic and cytologic grading and regression grading of prostate cancer]. *Urologe A* 24:156-159.

Heselmeyer K, Schrock E, du MS, Blegen H, Shah K, Steinbeck R, Auer G, Ried T. 1996. Gain of chromosome 3q defines the transition from severe dysplasia to invasive carcinoma of the uterine cervix. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:479-484.

Hickey K, Do KA, Green A. 2001. Smoking and prostate cancer. *Epidemiol Rev* 23:115-125.

Hirose Y, Aldape K, Takahashi M, Berger MS, Feuerstein BG. 2001. Tissue microdissection and degenerate oligonucleotide primed-polymerase chain reaction (DOP-PCR) is an effective method to analyze genetic aberrations in invasive tumors. *J Mol Diagn* 3:62-67.

Hohbach C, Dhom G. 1980. Pathology of prostatic cancer. *Scand J Urol Nephrol Suppl* 55:37-47.

Horninger W, Volgger H, Rogatsch H, Gschwendtner A, Bartsch G. 2001. Consideration of low PSA cut-off levels to optimize the detection of curable prostate cancer. *Eur Urol* 39 Suppl 4:43-46.

Hugosson J, Lilja H, Lodding P, Pihl CG. 2001. Tumor volume is a valid surrogate endpoint for defining clinically significant prostate cancers. *Eur Urol* 39 Suppl 4:33-34.

Huncharek M, Muscat J. 1995. Serum prostate-specific antigen as a predictor of radiographic staging studies in newly diagnosed prostate cancer. *Cancer Invest* 13:31-35.

Hyttinen ER, Frierson HF, Jr., Boyd JC, Chung LW, Dong JT. 1999. Three distinct regions of allelic loss at 13q14, 13q21-22, and 13q33 in prostate cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 25:108-114.

Inazawa J, Inoue J, Imoto I. 2004. Comparative genomic hybridization (CGH)-arrays pave the way for identification of novel cancer-related genes. *Cancer Sci* 95:559-563.

- Inman BA, Davies JD, Rangel LJ, Bergstralh EJ, Kwon ED, Blute ML, Karnes RJ, Leibovich BC. 2008. Long-term outcomes of radical prostatectomy with multimodal adjuvant therapy in men with a preoperative serum prostate-specific antigen level ≥ 50 ng/mL. *Cancer* 113:1544-1551.
- Isaacs WB, Bova GS, Morton RA, Bussemakers MJ, Brooks JD, Ewing CM. 1994. Genetic alterations in prostate cancer. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 59:653-659.
- Isola JJ, Kallioniemi OP, Chu LW, Fuqua SA, Hilsenbeck SG, Osborne CK, Waldman FM. 1995. Genetic aberrations detected by comparative genomic hybridization predict outcome in node-negative breast cancer. *Am J Pathol* 147:905-911.
- Jenkins R, Takahashi S, DeLacey K, Bergstralh E, Lieber M. 1998. Prognostic significance of allelic imbalance of chromosome arms 7q, 8p, 16q, and 18q in stage T3N0M0 prostate cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 21:131-143.
- Jeuken JW, Sprenger SH, Wesseling P. 2002. Comparative genomic hybridization: practical guidelines. *Diagn Mol Pathol* 11:193-203.
- Jones E, Zhu XL, Rohr LR, Stephenson RA, Brothman AR. 1994. Aneusomy of chromosomes 7 and 17 detected by FISH in prostate cancer and the effects of selection in vitro. *Genes Chromosomes Cancer* 11:163-170.
- Joos S, Scherthan H, Speicher MR, Schlegel J, Cremer T, Lichter P. 1993. Detection of amplified DNA sequences by reverse chromosome painting using genomic tumor DNA as probe. *Hum Genet* 90:584-589.
- Kallioniemi A, Kallioniemi OP, Sudar D, Rutovitz D, Gray JW, Waldman F, Pinkel D. 1992. Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science* 258:818-821.
- Kallioniemi OP, Kallioniemi A, Sudar D, Rutovitz D, Gray JW, Waldman F, Pinkel D. 1993. Comparative genomic hybridization: a rapid new method for detecting and mapping DNA amplification in tumors. *Semin Cancer Biol* 4:41-46.
- Kasahara K, Taguchi T, Yamasaki I, Kamada M, Shuin T. 2005. Genetic changes in localized prostate cancer of Japanese patients shown by comparative genomic hybridization. *Cancer Genet Cytogenet* 159:84-88.
- Kasahara K, Taguchi T, Yamasaki I, Kamada M, Yuri K, Shuin T. 2002. Detection of genetic alterations in advanced prostate cancer by comparative genomic hybridization. *Cancer Genet Cytogenet* 137:59-63.
- Kibel AS, Humphrey PA. 2001. Latent prostate carcinoma in a screened population. *Eur Urol* 39 Suppl 4:35-36.
- Kim SH, Kim MS, Jensen RH. 2000. Genetic alterations in microdissected prostate cancer cells by comparative genomic hybridization. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 3:110-114.
- Kinoshita H, Kamoto T, Nishiyama H, Nakamura E, Matsuda T, Ogawa O. 2007. Prostate specific antigen nadir determined using ultra-sensitive prostate specific antigen as a predictor of biochemical progression after radical prostatectomy in Japanese males. *Int J Urol* 14:930-934.

Kirchhoff M, Gerdes T, Maahr J, Rose H, Lundsteen C. 1997. Automatic correction of the interfering effect of unsuppressed interspersed repetitive sequences in comparative genomic hybridization analysis. *Cytometry* 28:130-134.

Kirkels WJ, Rietbergen JB. 1997. Screening for prostate cancer. *Urol Res* 25 Suppl 2:S53-S56.

Kobayashi M, Ishida H, Shindo T, Niwa SI, Kino M, Kawamura K, Kamiya N, Imamoto T, Suzuki H, Hirokawa Y, Shiraishi T, Tanizawa T, Nakatani Y, Ichikawa T. 2008. Molecular analysis of multifocal prostate cancer by comparative genomic hybridization. *Prostate*.

Kupelian P, Katcher J, Levin H, Zippe C, Klein E. 1996. Correlation of clinical and pathologic factors with rising prostate-specific antigen profiles after radical prostatectomy alone for clinically localized prostate cancer. *Urology* 48:249-260.

Lange EM, Gillanders EM, Davis CC, Brown WM, Campbell JK, Jones M, Gildea D, Riedesel E, Albertus J, Freas-Lutz D, Markey C, Giri V, Dimmer JB, Montie JE, Trent JM, Cooney KA. 2003. Genome-wide scan for prostate cancer susceptibility genes using families from the University of Michigan prostate cancer genetics project finds evidence for linkage on chromosome 17 near BRCA1. *Prostate* 57:326-334.

Latil A, Chene L, Mangin P, Fournier G, Berthon P, Cussenot O. 2003. Extensive analysis of the 13q14 region in human prostate tumors: DNA analysis and quantitative expression of genes lying in the interval of deletion. *Prostate* 57:39-50.

Lau WK, Bergstralh EJ, Blute ML, Slezak JM, Zincke H. 2002. Radical prostatectomy for pathological Gleason 8 or greater prostate cancer: influence of concomitant pathological variables. *J Urol* 167:117-122.

Leube B, Drechsler M, Muhlmann K, Schafer R, Schulz WA, Santourlidis S, Anastasiadis A, Ackermann R, Visakorpi T, Muller W, Royer-Pokora B. 2002. Refined mapping of allele loss at chromosome 10q23-26 in prostate cancer. *Prostate* 50:135-144.

Lilja H, Christensson A, Dahlen U, Matikainen MT, Nilsson O, Pettersson K, Lovgren T. 1991. Prostate-specific antigen in serum occurs predominantly in complex with alpha 1-antichymotrypsin. *Clin Chem* 37:1618-1625.

Macoska JA, Powell IJ, Sakr W, Lane MA. 1992. Loss of the 17p chromosomal region in a metastatic carcinoma of the prostate. *J Urol* 147:1142-1146.

Macoska JA, Trybus TM, Benson PD, Sakr WA, Grignon DJ, Wojno KD, Pietruk T, Powell IJ. 1995. Evidence for three tumor suppressor gene loci on chromosome 8p in human prostate cancer. *Cancer Res* 55:5390-5395.

Macoska JA, Trybus TM, Wojno KJ. 2000. 8p22 loss concurrent with 8c gain is associated with poor outcome in prostate cancer. *Urology* 55:776-782.

Matsuda K, Matsuyama H, Hara T, Yoshihiro S, Oga A, Kawauchi S, Furuya T, Izumi H, Naito K, Sasaki K. 2004. DNA sequence copy number aberrations in prostate cancers: a comparison of comparative genomic hybridization data between Japan and European countries. *Cancer Genet Cytogenet* 152:119-123.

Matsuyama H, Pan Y, Oba K, Yoshihiro S, Matsuda K, Hagarth L, Kudren D, Naito K, Bergerheim US, Ekman P. 2003. The role of chromosome 8p22 deletion for predicting disease progression and pathological staging in prostate cancer. *Aktuelle Urol* 34:247-249.

May F, Hartung R, Breul J. 2001. The ability of the American Joint Committee on Cancer Staging system to predict progression-free survival after radical prostatectomy. *BJU Int* 88:702-707.

Mettlin CJ, Murphy GP, Rosenthal DS, Menck HR. 1998. The National Cancer Data Base report on prostate carcinoma after the peak in incidence rates in the U.S. The American College of Surgeons Commission on Cancer and the American Cancer Society. *Cancer* 83:1679-1684.

Miller und Weißbach. Leitlinien zur Diagnostik von Prostatakarzinomen. 4, 389-391. 1999. *Urologe*.

Mononen N, Syrjakoski K, Matikainen M, Tammela TL, Schleutker J, Kallioniemi OP, Trapman J, Koivisto PA. 2000. Two percent of Finnish prostate cancer patients have a germline mutation in the hormone-binding domain of the androgen receptor gene. *Cancer Res* 60:6479-6481.

Monroe KR, Yu MC, Kolonel LN, Coetzee GA, Wilkens LR, Ross RK, Henderson BE. 1995. Evidence of an X-linked or recessive genetic component to prostate cancer risk. *Nat Med* 1:827-829.

MORGANTI G, GIANFERRARI L, CRESSERI A, ARRIGONI G, LOVATI G. 1956. [Clinico-statistical and genetic research on neoplasms of the prostate.]. *Acta Genet Stat Med* 6:304-305.

Mostofi FK. 1975. Grading of prostatic carcinoma. *Cancer Chemother Rep* 59:111-117.

Narod SA, Dupont A, Cusan L, Diamond P, Gomez JL, Suburu R, Labrie F. 1995. The impact of family history on early detection of prostate cancer. *Nat Med* 1:99-101.

Nupponen N, Visakorpi T. 1999. Molecular biology of progression of prostate cancer. *Eur Urol* 35:351-354.

Nupponen NN, Visakorpi T. 2000. Molecular cytogenetics of prostate cancer. *Microsc Res Tech* 51:456-463.

Nwosu V, Carpten J, Trent JM, Sheridan R. 2001. Heterogeneity of genetic alterations in prostate cancer: evidence of the complex nature of the disease. *Hum Mol Genet* 10:2313-2318.

Pakkanen S, Baffoe-Bonnie AB, Matikainen MP, Koivisto PA, Tammela TL, Deshmukh S, Ou L, Bailey-Wilson JE, Schleutker J. 2007. Segregation analysis of 1,546 prostate cancer families in Finland shows recessive inheritance. *Hum Genet* 121:257-267.

Partin AW, Kattan MW, Subong EN, Walsh PC, Wojno KJ, Oesterling JE, Scardino PT, Pearson JD. 1997. Combination of prostate-specific antigen, clinical stage, and Gleason score to predict pathological stage of localized prostate cancer. A multi-institutional update. *JAMA* 277:1445-1451.

Partin AW, Mangold LA, Lamm DM, Walsh PC, Epstein JI, Pearson JD. 2001. Contemporary update of prostate cancer staging nomograms (Partin Tables) for the new millennium. *Urology* 58:843-848.

Petersen I, Schwendel A, Bockmuhl U, Dietel M. 1996. [Comparative genomic hybridization. A screening method in genetic tumor diagnosis]. *Pathologe* 17:333-341.

Pinkel D, Straume T, Gray JW. 1986. Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 83:2934-2938.

Prestigiacomo AF, Stamey TA. 1995. Clinical usefulness of free and complexed PSA. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 221:32-34.

Qian J, Hirasawa K, Bostwick DG, Bergstralh EJ, Slezak JM, Anderl KL, Borell TJ, Lieber MM, Jenkins RB. 2002. Loss of p53 and c-myc overrepresentation in stage T(2-3)N(1-3)M(0) prostate cancer are potential markers for cancer progression. *Mod Pathol* 15:35-44.

Ribeiro FR, Jeronimo C, Henrique R, Fonseca D, Oliveira J, Lothe RA, Teixeira MR. 2006. 8q gain is an independent predictor of poor survival in diagnostic needle biopsies from prostate cancer suspects. *Clin Cancer Res* 12:3961-3970.

Robert Koch Institut. 2007. www.rki.de.

Ross RK, Pike MC, Coetzee GA, Reichardt JK, Yu MC, Feigelson H, Stanczyk FZ, Kolonel LN, Henderson BE. 1998. Androgen metabolism and prostate cancer: establishing a model of genetic susceptibility. *Cancer Res* 58:4497-4504.

Roth K, Wolf G, Dietel M, Petersen I. 1996. [Analysis program for quantitative detection of chromosome aberrations using comparative genomic hybridization]. *Pathologe* 17:342-348.

Roylance R, Spurr N, Sheer D. 1997. The genetic analysis of prostate carcinoma. *Semin Cancer Biol* 8:37-44.

Santos ML, Sarkis AS, Nishimoto IN, Nagai MA. 2003. Androgen receptor CAG repeat polymorphism in prostate cancer from a Brazilian population. *Cancer Detect Prev* 27:321-326.

Saramaki O, Visakorpi T. 2007. Chromosomal aberrations in prostate cancer. *Front Biosci* 12:3287-3301.

Sato H, Minei S, Hachiya T, Yoshida T, Takimoto Y. 2006. Fluorescence in situ hybridization analysis of c-myc amplification in stage TNM prostate cancer in Japanese patients. *Int J Urol* 13:761-766.

Sato K, Qian J, Slezak JM, Lieber MM, Bostwick DG, Bergstralh EJ, Jenkins RB. 1999. Clinical significance of alterations of chromosome 8 in high-grade, advanced, nonmetastatic prostate carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 91:1574-1580.

Schaid DJ, McDonnell SK, Blute ML, Thibodeau SN. 1998. Evidence for autosomal dominant inheritance of prostate cancer. *Am J Hum Genet* 62:1425-1438.

Schmid H-P. Screening und Früherkennung des Prostatakarzinoms-Zwischen Szylla und Charybdis . Altwein J E, Faul P, Wirth M. Heft 12 96, A-772-777. 1999. Dt Ärzteblatt.

Shaneyfelt T, Husein R, Bubley G, Mantzoros CS. 2000. Hormonal predictors of prostate cancer: a meta-analysis. *J Clin Oncol* 18:847-853.

Smith JR, Freije D, Carpten JD, Gronberg H, Xu J, Isaacs SD, Brownstein MJ, Bova GS, Guo H, Bujnovszky P, Nusskern DR, Damber JE, Bergh A, Emanuelsson M, Kallioniemi OP, Walker-Daniels J, Bailey-Wilson JE, Beaty TH, Meyers DA, Walsh PC, Collins FS, Trent JM, Isaacs WB. 1996a. Major susceptibility locus for prostate cancer on chromosome 1 suggested by a genome-wide search. *Science* 274:1371-1374.

Smith JR, Freije D, Carpten JD, Gronberg H, Xu J, Isaacs SD, Brownstein MJ, Bova GS, Guo H, Bujnovszky P, Nusskern DR, Damber JE, Bergh A, Emanuelsson M, Kallioniemi OP, Walker-Daniels J, Bailey-Wilson JE, Beaty TH, Meyers DA, Walsh PC, Collins FS, Trent JM, Isaacs WB. 1996b. Major susceptibility locus for prostate cancer on chromosome 1 suggested by a genome-wide search. *Science* 274:1371-1374.

Snijders AM, Pinkel D, Albertson DG. 2003. Current status and future prospects of array-based comparative genomic hybridisation. *Brief Funct Genomic Proteomic* 2:37-45.

Solinas-Toldo S, Lampel S, Stilgenbauer S, Nickolenko J, Benner A, Dohner H, Cremer T, Lichter P. 1997. Matrix-based comparative genomic hybridization: biochips to screen for genomic imbalances. *Genes Chromosomes Cancer* 20:399-407.

Statistisches Bundesamt. Krebstodesursache. 2007. www.destatis.de.

Steiner U., Miller K. Das lokal fortgeschrittenen Prostatakarzinom im Operationspräparat - was tun? 38, 31-34. 1998. *Urologe B*.

Steiner T, Junker K, Burkhardt F, Braunsdorf A, Janitzky V, Schubert J. 2002. Gain in chromosome 8q correlates with early progression in hormonal treated prostate cancer. *Eur Urol* 41:167-171.

Steuber T, Erbersdobler A, Graefen M, Haese A, Huland H, Karakiewicz PI. 2006. Comparative assessment of the 1992 and 2002 pathologic T3 substages for the prediction of biochemical recurrence after radical prostatectomy. *Cancer* 106:775-782.

Storkel S, Simon R, Brinkschmidt C, Gronwald J, Bocker W. 1996. [Comparative genomic hybridization in pathology. A new molecular cytogenetic method]. *Pathologie* 17:189-194.

Strohmeyer DM, Berger AP, Moore DH, Bartsch G, Klocker H, Carroll PR, Loening SA, Jensen RH. 2004. Genetic aberrations in prostate carcinoma detected by comparative genomic hybridization and microsatellite analysis: association with progression and angiogenesis. *Prostate* 59:43-58.

Sun J, Liu W, Adams TS, Sun J, Li X, Turner AR, Chang B, Kim JW, Zheng SL, Isaacs WB, Xu J. 2007. DNA copy number alterations in prostate cancers: a combined analysis of published CGH studies. *Prostate* 67:692-700.

Tavtigian SV, Simard J, Teng DH, Abtin V, Baumgard M, Beck A, Camp NJ, Carillo AR, Chen Y, Dayananth P, Desrochers M, Dumont M, Farnham JM, Frank D, Frye C, Ghaffari S, Gupte JS, Hu R, Iliev D, Janecki T, Kort EN, Laity KE, Leavitt A, Leblanc G, McArthur-Morrison J, Pederson A, Penn B, Peterson KT, Reid JE, Richards S, Schroeder M, Smith R, Snyder SC, Swedlund B, Swensen J, Thomas A, Tranchant M, Woodland AM, Labrie F,

- Skolnick MH, Neuhausen S, Rommens J, Cannon-Albright LA. 2001. A candidate prostate cancer susceptibility gene at chromosome 17p. *Nat Genet* 27:172-180.
- Telenius H, Carter NP, Bebb CE, Nordenskjold M, Ponder BA, Tunnacliffe A. 1992. Degenerate oligonucleotide-primed PCR: general amplification of target DNA by a single degenerate primer. *Genomics* 13:718-725.
- Thompson IM. 2001. Latent carcinoma of the prostate. *Eur Urol* 39 Suppl 4:41-42.
- Torring N, Borre M, Sorensen KD, Andersen CL, Wiuf C, Orntoft TF. 2007. Genome-wide analysis of allelic imbalance in prostate cancer using the Affymetrix 50K SNP mapping array. *Br J Cancer* 96:499-506.
- Tsuchiya N, Slezak JM, Lieber MM, Bergstralh EJ, Jenkins RB. 2002. Clinical significance of alterations of chromosome 8 detected by fluorescence in situ hybridization analysis in pathologic organ-confined prostate cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 34:363-371.
- UICC WC, Wagner G. *TNM Klassifikation maligner Tumoren*. 6.Auflage. 2002. Springer-Verlag Berlin-Heidelberg New York.
- van Dekken H, Alers JC, Damen IA, Vissers KJ, Krijtenburg PJ, Hoedemaeker RF, Wildhagen MF, Hop WC, van der Kwast TH, Tanke HJ, Schroder FH. 2003. Genetic evaluation of localized prostate cancer in a cohort of forty patients: gain of distal 8q discriminates between progressors and nonprogressors. *Lab Invest* 83:789-796.
- van den BC, Guan XY, Von Hoff D, Jenkins R, Bittner, Griffin C, Kallioniemi O, Visakorpi, McGill, Herath J, . 1995. DNA sequence amplification in human prostate cancer identified by chromosome microdissection: potential prognostic implications. *Clin Cancer Res* 1:11-18.
- van Duin M, van Marion R, Vissers K, Watson JE, van Weerden WM, Schroder FH, Hop WC, van der Kwast TH, Collins C, van Dekken H. 2005. High-resolution array comparative genomic hybridization of chromosome arm 8q: evaluation of genetic progression markers for prostate cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 44:438-449.
- Veltman JA, Fridlyand J, Pejavar S, Olshen AB, Korkola JE, DeVries S, Carroll P, Kuo WL, Pinkel D, Albertson D, Cordon-Cardo C, Jain AN, Waldman FM. 2003. Array-based comparative genomic hybridization for genome-wide screening of DNA copy number in bladder tumors. *Cancer Res* 63:2872-2880.
- Virgin JB, Hurley PM, Nahhas FA, Bebachuk KG, Mohamed AN, Sakr WA, Bright RK, Cher ML. 1999. Isochromosome 8q formation is associated with 8p loss of heterozygosity in a prostate cancer cell line. *Prostate* 41:49-57.
- Visakorpi T. 1999. Molecular genetics of prostate cancer. *Ann Chir Gynaecol* 88:11-16.
- Visakorpi T, Hyytinen E, Koivisto P, Tanner M, Keinänen R, Palmberg C, Palotie A, Tammela T, Isola J, Kallioniemi OP. 1995a. In vivo amplification of the androgen receptor gene and progression of human prostate cancer. *Nat Genet* 9:401-406.
- Visakorpi T, Kallioniemi AH, Syvanen AC, Hyytinen ER, Karhu R, Tammela T, Isola JJ, Kallioniemi OP. 1995b. Genetic changes in primary and recurrent prostate cancer by comparative genomic hybridization. *Cancer Res* 55:342-347.

- Walsh PC, Partin AW, Epstein JI. 1994. Cancer control and quality of life following anatomical radical retropubic prostatectomy: results at 10 years. *J Urol* 152:1831-1836.
- Wang MC, Valenzuela LA, Murphy GP, Chu TM. 1979. Purification of a human prostate specific antigen. *Invest Urol* 17:159-163.
- Weinberg RA. 1989. Oncogenes, antioncogenes, and the molecular bases of multistep carcinogenesis. *Cancer Res* 49:3713-3721.
- Weiss MM, Hermsen MA, Meijer GA, van Grieken NC, Baak JP, Kuipers EJ, van Diest PJ. 1999. Comparative genomic hybridisation. *Mol Pathol* 52:243-251.
- Weiss MM, Kuipers EJ, Meuwissen SG, van Diest PJ, Meijer GA. 2003. Comparative genomic hybridisation as a supportive tool in diagnostic pathology. *J Clin Pathol* 56:522-527.
- Wessendorf S, Fritz B, Wrobel G, Nessling M, Lampel S, Goettel D, Kuepper M, Joos S, Hopman T, Kokocinski F, Dohner H, Bentz M, Schwaenen C, Lichter P. 2002. Automated screening for genomic imbalances using matrix-based comparative genomic hybridization. *Lab Invest* 82:47-60.
- Wilkens L, Tchinda J, Burkhardt D, Kreipe HH. 2002. Significant hybridization differences in comparative genomic hybridization due to nucleotides used for DNA labelling and to DNA chosen for cohybridization. *Pathobiology* 70:204-208.
- Wirth M, Frohner M. 2000. [PSA rise after radical prostatectomy]. *Urologe A* 39:3-8.
- Wolter H, Gottfried HW, Mattfeldt T. 2002. Genetic changes in stage pT2N0 prostate cancer studied by comparative genomic hybridization. *BJU Int* 89:310-316.
- Xu J, Meyers D, Freije D, Isaacs S, Wiley K, Nusskern D, Ewing C, Wilkens E, Bujnovszky P, Bova GS, Walsh P, Isaacs W, Schleutker J, Matikainen M, Tammela T, Visakorpi T, Kallioniemi OP, Berry R, Schaid D, French A, McDonnell S, Schroeder J, Blute M, Thibodeau S, Gronberg H, Emanuelsson M, Damber JE, Bergh A, Jonsson BA, Smith J, Bailey-Wilson J, Carpten J, Stephan D, Gillanders E, Amundson I, Kainu T, Freas-Lutz D, Baffoe-Bonnie A, Van Aucken A, Sood R, Collins F, Brownstein M, Trent J. 1998. Evidence for a prostate cancer susceptibility locus on the X chromosome. *Nat Genet* 20:175-179.

VI **Anhang**

Lebenslauf

Name: Eveline Hauschild, geb. Klose

Geburtsdatum: 20. Juli 1977

Geburtsort: Jena

Anschrift: Botzstr.6, 07743 Jena

Familienstand: verheiratet, 1 Kind

Schulbildung: 1984 – 1991 Polytechnische Oberschule in Jena
 1991 – 1996 Adolf-Reichwein-Gymnasium in Jena
 1996 Abitur

Medizinstudium: 1998 – 2004 Friedrich-Schiller-Universität in Jena
 2004 Staatsexamen

Facharztausbildung: seit 2005 Assistenzärztin, Abteilung für Urologie der HELIOS Klinik
 Blankenhain

Jena, im Mai 2009

Unterschrift

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Prof. Dr. med. Dr. h. c. Schubert, PD Dr. med. Junker, PD Dr. med. Steiner (alle Klinik für Urologie der FSU Jena),

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Danksagung

Herrn Professor Dr. Dr. J. Schubert, Direktor der Klinik für Urologie und Kinderurologie der Friedrich-Schiller-Universität Jena, danke ich für die freundliche Überlassung des Themas und die Möglichkeit zu dessen Bearbeitung unter optimalen Bedingungen.

Frau PD Dr. K. Junker danke ich für die fachliche Unterstützung, welche durch ihre freundliche, engagierte und motivierende Betreuung großen Anteil am Gelingen dieser Arbeit hat.

Mein Dank gilt den geduldigen Mitarbeitern des Forschungslabors, besonders Frau Bianca Ilse, Frau Jana Jeschke, Frau Heike Wahner und Frau Jimse Sanjmyatav, welche mich in die Methode einarbeiteten und mir unkompliziert mit Rat und Tat zur Seite standen.

PD Dr. T. Steiner danke ich für die Überlassung der Daten der TRUZ-Gruppe.

Ich danke PD Dr. rer. nat. habil. Wolfgang Berg für die Bereitstellung aktueller Literatur zum Prostataspezifischen Antigen.

Des weiteren danke ich Chefarzt Dr. G. Eschholz für die fachlichen Anmerkungen und Korrektur der vorliegenden Arbeit und der wiederholten Freistellungen zur Fertigstellung der Arbeit.

Susanne Triebel danke ich für das kritische Korrekturlesen der Arbeit.

Ich danke Frau PD Dr. K. Kromeyer-Hauschild und meinem Ehemann Christian für die Hilfe beim Erstellen des Layouts der Arbeit.

Ein großer Dank gilt meiner Mutter Elvira Klose für ihre Geduld, die aufmunternden Worte, das Schaffen von Freiräumen und ihrer liebenswerten Art, mit der sich mich stets unterstützt.